

**UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL**

**Façonnement de la diversité génétique de populations de poissons  
de lacs du Bouclier Laurentien**

**Par MARIE-CLAUDE GAGNON**

Département des sciences biologiques  
Faculté des arts et des sciences

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures  
en vue de l'obtention du grade de  
Maître ès sciences (M. Sc.)  
en sciences biologiques

Novembre 2004

© Marie-Claude Gagnon, 2004



QH

302

U54

2005

v. 007

## **AVIS**

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

## **NOTICE**

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

**UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL**  
**Faculté des Études Supérieures**

Ce mémoire intitulé:

**Façonnement de la diversité génétique de populations de poissons  
de lacs du Bouclier Laurentien**

Présenté par:  
**MARIE-CLAUDE GAGNON**

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes:

Daniel Boisclair.....président-rapporteur  
Louis Bernatchez... ..membre du jury  
Bernard Angers.....directeur de recherche

Mémoire accepté le 26 novembre 2004

## SOMMAIRE

La répartition géographique de la diversité génétique des populations d'une espèce découle fortement de l'influence de facteurs historiques, tels que les épisodes de glaciations. Cependant, dans les régions récemment déglacées (< 10 000 ans), l'action combinée de plusieurs autres facteurs, tels que les capacités physiologiques des espèces ou les fluctuations démographiques subies par les populations, ont pu aussi avoir une importance capitale lors de ce processus et agir de manière différente chez différentes espèces. Par conséquent, l'obtention d'une structure génétique similaire pour des populations provenant de différentes espèces est improbable, à moins qu'une forte pression environnementale n'ait modulée le façonnement de cette structure.

L'objectif de ce projet consiste à déterminer le rôle joué par les facteurs tels que les capacités physiologiques ou les fluctuations démographiques associés à la colonisation post-glaciaire lors du façonnement de la structure génétique de différentes espèces de poissons. Pour ce faire, la diversité génétique de trois espèces de poissons retrouvées en sympatrie dans des lacs du Bouclier Canadien mais possédant des caractéristiques physiologiques et écologiques différentes a été comparée à l'aide de marqueurs moléculaires situés sur l'ADN mitochondrial et nucléaire. Les trois espèces à l'étude sont le brochet (*Esox lucius*), le corégone (*Coregonus clupeaformis*) et la perchaude (*Perca flavescens*). Cette comparaison devrait permettre de faire la distinction entre les caractéristiques propres à chaque espèce et les patrons communs à toutes les espèces ayant influencé le façonnement de la diversité génétique de ces poissons.

Les résultats indiquent que les populations de brochets ne semblent pas avoir subi de fluctuations démographiques au cours des 10 000 dernières années. Ce résultat suggère que la faible différenciation observée entre les populations de brochets ( $F_{ST} = 0,1364$ ) résulterait de grandes tailles effectives chez ce poisson. Pour leur part, les populations de corégones et de perchaudes présentent une plus grande différenciation génétique ( $F_{ST} = 0,3688$  et  $0,4012$ ) que les populations de brochets. Ceci pourrait être la conséquence d'effets fondateurs sévères pour les populations de ces espèces. Malgré ces différences dans leurs histoires évolutives, ces trois espèces présente une orientation longitudinale commune dans l'organisation de leur structure génétique. Ceci suggère des patrons de colonisation post-glaciaire similaires pour ces trois espèces de poissons.

Mots clés: phylogéographie comparée, glaciations du Pléistocène, ADN mitochondrial, microsatellite, différenciation génétique, fluctuations démographiques

## SUMMARY

Phylogeographic studies have shed light on Pleistocene glaciations as a key factor in shaping present-day genetic structure of many aquatic organisms. In formerly glaciated regions, the combined action of several factors such as refuges origin, physiological capacities (eg. swimming performance, temperature and salinity tolerance) and demographic parameters have contributed importantly to this process but specifically for each species. Therefore, a fine scale genetic structure is not expected to be similar for different species, unless it has been modulated by the action of a strong environmental pressure.

The aim of this study was to determine how factors such as physiological capacities and demographic parameters associated to post-glacial colonisation have influenced the genetic structure of fishes. To achieve this objective, the genetic characteristics of three fish species (northern pike: *Esox lucius*, lake whitefish: *Coregonus clupeaformis* and yellow perch: *Perca flavescens*) commonly found in sympatry in Laurentian Shield lakes but displaying different ecological and physiological characteristics were compared at the level of mitochondrial and nuclear genomes. This comparison is expected to allow the distinction of species-specific characteristics from multi-species patterns associated to environment in the partitioning of the genetic diversity.

For northern pike, no demographic fluctuations were detected, suggesting that the low differentiation ( $F_{ST} = 0.1364$ ) observed between populations is likely the result of large effective population sizes. Lake whitefish and yellow perch populations presented higher differentiation ( $F_{ST} = 0.3688$  and  $0.4012$ ), as the consequence of founder events, stronger in

eastern populations than in western populations. Despite the differences in their evolutionary histories, the three species presented a common longitudinal signal in the organisation of their genetic structure. This suggested that, following the glacier retreat, colonisation by those three species processed independently but similarly.

**Keywords:** comparative phylogeography, Pleistocene glaciations, mitochondrial DNA, microsatellite, genetic differentiation, demographic fluctuations



# TABLE DES MATIÈRES

Sommaire .....	iii
Summary .....	v
Liste des tableaux .....	ix
Liste des figures .....	x
Liste des sigles et abréviations .....	xi
Remerciements .....	xiv
 1. INTRODUCTION.....	 1
1.1 BIOGÉOGRAPHIE .....	2
1.2 PHYLOGÉOGRAPHIE .....	5
1.3 MARQUEURS UTILISÉS EN PHYLOGÉOGRAPHIE .....	6
1.3.1 ADN mitochondrial.....	7
1.3.2 ADN nucléaire .....	8
1.4 FACTEURS HISTORIQUES: GLACIATIONS DU PLÉISTOCÈNE .....	9
1.5 FACTEURS CONTEMPORAINS .....	13
1.6 OBJECTIFS DE L'ÉTUDE .....	18
 2. ARTICLE: THE DETERMINANT ROLE OF ENVIRONMENTAL FACTORS IN THE PARTITIONING OF GENETIC DIVERSITY: A COMPARATIVE PHYLOGEOGRAPHIC CASE STUDY .....	     25
2.1 INTRODUCTION.....	27
2.2 MATERIALS AND METHODS .....	30
2.2.1 Model species.....	30
2.2.2 Sampling .....	31
2.2.3 Mitochondrial DNA analysis .....	32
2.2.4 Microsatellite analysis.....	33

2.2.5 Statistical analyses .....	34
2.2.5.1 DNA diversity .....	34
2.2.5.2 Partition of the genetic diversity .....	35
2.2.5.3 Demographic parameters .....	35
2.2.5.4 Isolation by distance (IBD) .....	36
2.2.5.5 Genetic structure .....	36
2.2.5.6 Genetic differentiation .....	37
2.3 RESULTS .....	37
2.3.1 Mitochondrial DNA diversity .....	37
2.3.2 Nuclear DNA diversity .....	39
2.3.3 Demographic parameters .....	40
2.3.4 IBD .....	41
2.3.5 Genetic structure .....	42
2.3.6 Genetic differentiation .....	45
2.4 DISCUSSION .....	47
2.4.1 Post-glacial origin .....	47
2.4.2 Demographic fluctuations .....	49
2.4.3 Historic environmental patterns .....	50
2.4.4 Perspectives .....	52
3. CONCLUSION .....	53
3.1 COMPARAISON DE MARQUEURS MOLÉCULAIRES .....	54
3.2 COMPARAISON D'ESPÈCES .....	56
3.3 PERSPECTIVES .....	57
RÉFÉRENCES .....	59
ANNEXE .....	81
APPENDIX I .....	82
APPENDIX II .....	86

## LISTE DES TABLEAUX

**Table I.** Drainage and sample size of each population for northern pike (Eslu), lake whitefish (Cocl) and yellow perch (Pefl).....**31**

**Table II.** Results of partial Mantel tests ( $r_M$  = Mantel statistic,  $p$  = probability) for relationships between  $F_{ST}/(1-F_{ST})$  estimated from nucDNA and different geographic distances (waterway, straight line, east-west and north-south) for northern pike (Eslu), lake whitefish (Cocl) and yellow perch (Pefl). The matrice of geographic distance  $X_1$  was compared to the matrice of genetic distance after removing the effects of the matrice of geographic distance  $X_2$ . For yellow perch, the S3 population was not included in the analyses. Results in bold remain significant following sequential Bonferroni corrections.....**42**

**Table III.** Partition of the genetic diversity as estimated by hierarchical AMOVA analyses on nucDNA for northern pike (Eslu), lake whitefish (Cocl) and yellow perch (Pefl). Groups were defined either by drainage or by geographical proximity. For yellow perch, the S3 population was not included in the analyses.....**43**

**Table IV.** Mean  $D_{CE}$  and  $(\delta\mu)^2$  genetic distances and 95 % confidence intervals (CI) of pairwise comparisons involving populations within or among groups (as inferred by geographical proximity) for northern pike (Eslu), lake whitefish (Cocl) and yellow perch (Pefl). For yellow perch, the S3 population was not included in the analysis. Time of divergence ( $T$ ) was estimated using  $(\delta\mu)^2 = 2\mu T / G$  (Goldstein et al. 1995) where  $\mu$  = mutation rate ( $4 \times 10^{-4}$  mutations/locus/generation) and  $G$  = generation time.....**46**

## LISTE DES FIGURES

**Figure 1.** Location of the study site in Quebec, Canada. The close-up represent the location of the sampling sites along the four major watershed of the region surveyed: Saguenay River (S1 to S5), Saint-Maurice River (M1 to M7), Outaouais River (O1 to O3) and James Bay (J1 and J2). Arrows indicated the direction of water flow.....**32**

**Figure 2.** Haplotypes network for mtDNA polymorphisms observed in A) lake whitefish (GenBank Accession Number AY854245 – AY854247) and B) yellow perch (GenBank Accession Number AY854242 – AY854244). Shaded circles represent haplotypes observed in this study, while surfaces correspond to their relative frequencies. Squares refer to haplotypes observed in previous studies (Lu et al. 2001 for lake whitefish and GenBank Accession Number Y14728 for yellow perch). Open circles represent missing haplotypes..... **38**

**Figure 3.** Results of the Barrier analysis indicating groups of populations used in the hierarchical analyses of variance for A) northern pike, B) lake whitefish and C) yellow perch. Groups are separated by dotted lines. For yellow perch, the S3 population was not included in the analyses.....**44**

## LISTE DES SIGLES ET DES ABRÉVIATIONS

A	Nombre d'allèles
ADN	Acide désoxyribonucléique
AMOVA	Analyse of molecular variance
bp	Base pairs
°C	Degrés Celsius
CI	Confidence interval
Cocl	Lake whitefish
D <sub>CE</sub>	Chord distance
D-loop	Control region
DNA	Deoxyribonucleic acid
dNTP	Deoxynucleotide triphosphates
Eslu	Northern pike
ESU	Evolutionary Significant Units
F <sub>CT</sub>	Représente la proportion de diversité génétique retrouvée entre les groupes par rapport à la diversité totale (dans un modèle de mutations IAM)
F <sub>SC</sub>	Représente la proportion de diversité génétique retrouvée entre les populations par rapport à la diversité retrouvée entre les groupes (dans un modèle de mutations IAM)
F <sub>ST</sub>	Représente la proportion de diversité génétique retrouvée entre les populations par rapport à la diversité totale (dans un modèle de mutations IAM)
G	Generation time
10X	Dix fois concentré
IAM	Infinite allele model
IBD	Isolation by distance
ISM	Infinite site model

$h$	Haplotypic diversity
$H_E$	Gene diversity
$H_O$	Observed heterozygotes
HWE	Hardy-Weinberg equilibrium
K	G ou T
Km	Kilomètre
$\mu$ l	Microlitre
M	Ratio of the number of alleles to the range in allele size
$\mu$ M	Micromolaire
mg	Microgramme
mM	Millimolaire
mtDNA	Mitochondrial deoxyribonucleic acid
n	Number of haplotypes
N	North
N	G, A, T ou C
$\pi$	Nucleotide diversity
$N_E$	Taille efficace
ng	Nanogramme
nucDNA	Nuclear deoxyribonucleic acid
p	Probability
PCR	Polymerase chain reaction
Pefl	Yellow perch
$r_M$	Mantel statistic

$\Phi_{ST}$	Représente la proportion de diversité génétique retrouvée entre les populations par rapport à la diversité totale, estimée à partir de séquences (dans un modèle de mutations ISM)
$\rho_{ST}$	Représente la proportion de diversité génétique retrouvée entre les populations par rapport à la diversité totale, estimée à partir de microsatellites (dans un modèle de mutations SMM)
sec	Seconde
SMM	Stepwise mutation model
SSCP	Single strand conformation polymorphism
%	Pourcentage
T	Time of divergence
<i>Taq</i>	Bactérie thermophile ( <i>Thermus aquaticus</i> ) dont la polymérase est utilisée pour répliquer l'ADN
$\mu$	Mutation rate
U	Unité
W	West
Y	T ou C

## REMERCIEMENTS

Je tiens en premier lieu à remercier Bernard Angers, mon directeur de recherche. En effet, lors de ces deux dernières années, j'ai appris énormément de choses et c'est en grande partie grâce à sa disponibilité, sa patience et son enthousiasme. Merci Bernard de m'avoir accepté dans ton laboratoire!

Je tiens aussi à remercier tout le monde du laboratoire de Populations, Génétique et Écologie Moléculaire. C'est aussi grâce à vous que ces deux dernières années se sont si bien déroulées! Vous êtes tous des personnes exceptionnelles et je suis bien contente de vous compter parmi mes amis!

Finalement, je tiens à remercier mes parents et mes amis pour leur soutien indéfectible pendant tout le temps qu'a duré ma maîtrise.



## **1. INTRODUCTION**

## 1.1 BIOGÉOGRAPHIE

La biogéographie est définie comme étant l'étude de la répartition d'espèces ou de groupes d'espèces dans l'espace et dans le temps (Blondel 1995). Cette discipline complexe peut être considérée comme étant essentiellement une science descriptive se trouvant à l'interface de nombreux autres domaines d'études tels que l'écologie, l'évolution, la systématique, la paléobiologie, la géographie, la géologie, la climatologie, la limnologie et l'océanographie (Brown et Lomolino 1998).

La biogéographie cherche à élucider les différents processus ayant contribué à la mise en place de la biodiversité à l'échelle des communautés. L'approche biogéographique s'intéresse donc à la fois aux processus macroévolutifs (spéciation, radiation, extinction, etc.) et microévolutifs (migration, sélection naturelle, mutations, dérive génique, etc.) façonnant les différents niveaux d'organisation biologique (Blondel 1995). Par exemple, des sujets tels que la mise en place des grands assemblages fauniques suite à la dérive des continents ou la manière dont sont régulés les systèmes biologiques actuels sont abordés dans le cadre d'études biogéographiques (Blondel 1995). Ces sujets se trouvant à des échelles temporelles et spatiales différentes, la biogéographie est généralement divisée en deux champs de recherche distincts: la biogéographie historique et la biogéographie écologique (Myers et Giller 1988).

La biogéographie historique cherche à reconstruire l'histoire évolutive des espèces et à déterminer le rôle joué par des événements historiques tels que la dérive des continents ou les épisodes de glaciation dans la distribution actuelle des organismes (Myers et Giller 1988). De façon traditionnelle, les études de biogéographie historique font des inférences sur l'histoire évolutive des organismes à partir de la distribution actuelle de ceux-ci ainsi

qu'à l'aide de l'information historique obtenue à partir des successions fossiles et polliniques, des gradients climatiques et des limites géomorphologiques (Bailey et Smith 1981; Legendre et Legendre 1984; Hocutt et Wiley 1986). La biogéographie historique s'intéresse donc principalement à des processus biologiques s'étant échelonné sur de très longues périodes de temps (Blondel 1995).

Le domaine de la biogéographie historique est principalement divisé en deux écoles de pensée, chacune possédant un point de vue divergent quant à la façon principale dont se seraient distribuées les espèces à la surface du globe (Myers et Giller 1988). La thèse dispersaliste se base sur la prémisse selon laquelle les populations d'une espèce se dispersent dans de nouveaux territoires depuis leur emplacement originel et sont ainsi amenées à franchir certaines barrières physiques (Morrone et Crisci 1995). La dispersion des populations amène donc leur isolement de la population ancestrale. Parmi les personnes ayant oeuvré au développement de cette thèse, on retrouve des scientifiques tels que Wallace (1876), Mayr (1963) et Darlington (1957).

D'un autre côté, la thèse de la vicariance se base sur la prémisse selon laquelle une espèce ancestrale est divisée par l'apparition de barrières physiques infranchissables (dérive des continents, formation d'une chaîne de montagnes, ...) s'échelonnant sur plusieurs milliers d'années. Les populations se retrouvent ainsi isolées et peuvent, au cours des années, se différencier en de nouvelles espèces (Morrone et Crisci 1995). Parmi les scientifiques ayant œuvré au développement de cette thèse, on retrouve Croizat (1952, 1958) et Henning (1966). Malgré le fait que la dispersion et la vicariance sont deux processus ayant probablement contribué conjointement à façonner la distribution actuelle des organismes

(Wallace 1880), ces deux écoles de pensée de la biogéographie historique demeurent encore aujourd'hui divisées et sujettes à controverses (Myers et Giller 1988).

De son côté, la biogéographie écologique cherche à expliquer la distribution des espèces en tenant compte des interactions entre les organismes et leur environnement, interactions actuelles ou ayant eu lieu dans un passé récent ( $< 10\,000$  ans) (Myers et Giller 1988). De plus, la biogéographie écologique cherche à identifier les processus limitant la distribution des populations d'une espèce et les processus responsables du maintien de la biodiversité (Myers et Giller 1988). La biogéographie écologique s'intéresse donc à des processus biologiques s'échelonnant sur de plus courtes périodes de temps que ceux de la biogéographie historique (Blondel 1995).

La biogéographie historique et la biogéographie écologique se distinguent donc essentiellement par leurs champs d'investigation, situés à des échelles temporelles et spatiales différentes. Cependant, malgré ces différences, ces deux champs de la biogéographie peuvent être considérés comme étant complémentaires (Myers et Giller 1988). Par exemple, les études biogéographiques cherchant à expliquer les conséquences des épisodes de glaciation du Pleistocène sur la distribution actuelle des organismes utilisent à la fois des approches de la biogéographie écologique (disponibilité des ressources, compétition, dynamique des populations, etc.) et de la biogéographie historique (refuges glaciaires, vicariance, dispersion, fluctuations climatiques, etc.) pour répondre à leurs questions (Myers et Giller 1988). De plus, le développement de nouveaux champs d'études, tel que la phylogéographie, favorise depuis quelques années l'intégration de ces deux domaines de la biogéographie traditionnelle (Blondel 1995).

## 1.2 PHYLOGÉOGRAPHIE

Les deux dernières décennies ont vu l'apparition et le développement d'une nouvelle sous-discipline de la biogéographie, la phylogéographie, ayant comme objectif l'élucidation des principes et des processus gouvernant la distribution des populations et des espèces (Avice 2000). Avec l'aide de marqueurs moléculaires et de modèles théoriques, la phylogéographie a permis d'obtenir de meilleures descriptions des distributions géographiques d'espèces ou de groupes d'espèces. De plus, cette approche a permis de mettre en lumière les relations phylogénétiques existant entre les différentes lignées évolutives (Bermingham et Moritz 1998).

De façon générale, la phylogéographie s'est principalement concentrée sur l'analyse de la diversité génétique des populations d'une espèce, soit sur une petite partie ou sur l'ensemble de leur aire de distribution (Bernatchez et Dodson 1991; Taberlet et Bouvet 1994; Demesure et al. 1996; Wilson et al. 1996; Dumolin-Lapègue et al. 1997; Angers et Bernatchez 1998; Wilson et Hebert 1998; Franck et al. 2001). Plusieurs de ces études ont permis de mettre en évidence l'existence de différentes lignées évolutives à l'intérieur d'une même espèce. De plus, dans la majorité de ces études, les temps de séparation et de dispersion de ces lignées se sont avérés correspondre étroitement avec l'avènement d'importants événements historiques tels que les épisodes de glaciation du Pléistocène, révélant ainsi le rôle prépondérant qu'ont joué ces processus lors du façonnement de la diversité génétique de ces espèces.

Depuis maintenant quelques années, on assiste à l'émergence d'une nouvelle approche phylogéographique: la phylogéographie comparée (Bermingham et Avice 1986). Cette approche, qui consiste en l'analyse de la diversité génétique et de la distribution

géographique de complexes d'espèces ou d'espèces occupant des aires de distribution similaires, est utilisée dans un nombre grandissant d'études phylogéographiques (Avice 1992; Avice 1994; Turner et al. 1996; Zink 1996; Bernatchez et Wilson 1998; Schneider et al. 1998; Taberlet et al. 1998; Arbogast 1999; Sullivan et al. 2000). La phylogéographie comparée a permis de mettre en évidence l'existence de patrons phylogéographiques congruents pour plusieurs espèces (Avice 1992; Bernatchez et Wilson 1998; Schneider et al. 1998) et différents pour d'autres (Zink 1996; Bernatchez et Wilson 1998), permettant ainsi d'identifier les espèces ayant une histoire évolutive commune. Outre son utilité pour mettre en contraste l'histoire évolutive des espèces à celle inférée à l'aide des méthodes de biogéographie traditionnelle, la phylogéographie comparée peut servir à l'identification d'assemblages de biodiversité au niveau des communautés (Wilson 1997) et d'aires revêtant une grande importance pour la conservation (Moritz et Faith 1998).

Depuis son apparition, la phylogéographie a permis de mettre en lumière et de quantifier l'importance des divers processus façonnant la diversité génétique d'un grand nombre d'espèces et de populations. Par conséquent, l'approche phylogéographique, qu'elle soit simple ou comparée, s'avère une méthode permettant d'inférer les trajectoires évolutives des espèces et des populations.

### 1.3 MARQUEURS UTILISÉS EN PHYLOGÉOGRAPHIE

Le principe de la phylogéographie consiste à combiner l'analyse génétique à la répartition des populations d'une espèce (Blondel 1995). L'analyse de la diversité génétique des populations se fait principalement à l'aide de marqueurs moléculaires situés sur l'ADN mitochondrial, sur l'ADN nucléaire et sur l'ADN chloroplastique (Avice 2000). Cependant, les marqueurs génétiques les plus utilisés en phylogéographie restent à ce jour l'ADN

mitochondrial chez les animaux et l'ADN chloroplastique chez les plantes (Bermingham et Moritz 1998).

### 1.3.1 ADN mitochondrial

L'ADN mitochondrial, tout comme l'ADN chloroplastique, possède plusieurs qualités qui en font un outil utile en phylogéographie (Avice et al. 1987). En effet, l'ADN mitochondrial est transmis de façon maternelle et la persistance d'un seul haplotype mitochondrial dans une population, parmi tous ceux présents au départ (monophylie réciproque), survient rapidement (Avice 2000). De plus, l'ADN mitochondrial ne subit aucune recombinaison (Avice et al. 1987). Finalement, il est relativement variable en terme de substitution de nucléotides, surtout lorsqu'on le compare à plusieurs loci nucléaires. Tous ces faits en font donc un excellent marqueur des processus historiques ayant affecté les populations.

Cependant, le génome mitochondrial ne représente qu'une des deux facettes de l'histoire évolutive d'un organisme eucaryote, dû principalement à son mode de transmission uniparental (Moritz 1994). Il ne permet pas toujours de détecter les phénomènes d'hybridation, où il y a reproduction entre les individus provenant de différentes populations, de mélange entre populations, où la reproduction n'est pas impliquée, et de migration différentielle selon le sexe (Avice et al. 1987). De plus, lorsque différentes populations sont séparées depuis peu de temps, l'ADN mitochondrial peut ne pas bien rendre compte de la divergence entre ces populations, car sa variabilité n'est généralement pas assez élevée (Angers et Bernatchez 1998).

### 1.3.2 ADN nucléaire

Depuis quelques années, de façon à obtenir un patron phylogénétique complet de l'histoire évolutive des espèces étudiées, des marqueurs nucléaires sont utilisés en complément au marqueur mitochondrial. Ces marqueurs possèdent notamment une taille efficace ( $N_E$ ) quatre fois plus grande que l'ADN mitochondrial chez les organismes diploïdes se reproduisant de façon sexuée, en assumant un équilibre mutation-dérive ainsi qu'une taille efficace identique pour les mâles et les femelles (Avice 2000). La taille efficace du génome nucléaire, plus grande que celle du génome mitochondrial, permet également de conserver plus de diversité génétique à l'intérieur des populations, et ce pendant une plus longue période de temps. Les populations deviennent donc monophylétiques pour des allèles différents beaucoup plus lentement avec l'ADN nucléaire qu'avec l'ADN mitochondrial (Avice 2000). Ces marqueurs sont aussi présents en grand nombre dans le génome nucléaire des organismes et tous les loci ne sont généralement pas physiquement liés les uns aux autres, contrairement au génome mitochondrial (Cooper 1999).

Parmi les marqueurs nucléaires les plus utilisés, on retrouve les microsatellites. Les microsatellites sont des séquences d'ADN répétées en tandem dont l'unité de répétition est composée de deux à six nucléotides (Jarne et Lagoda 1996). Les microsatellites permettent de détecter des niveaux fins de divergence entre les populations, notamment grâce à leur taux de mutation très élevé ( $10^{-3}$  à  $10^{-5}$ ) (Estoup et Angers 1998). En effet, ce haut taux de mutation favorise la formation d'un grand nombre d'allèles, ce qui permet plus facilement l'identification des effets de la dérive génique et de la migration. Dû au nombre de répétitions identiques composant les microsatellites, il peut y avoir glissement lors de la réplication et ainsi production d'un certain nombre d'erreurs, soit par insertions ou par



délétions, ce qui favorise la formation de différents allèles (Levinson et Gutman 1987). Les allèles diffèrent donc en taille, selon la variation du nombre de répétitions du microsatellite. Grâce à leur grand polymorphisme, les microsatellites sont d'excellents marqueurs des processus affectant les populations depuis la dernière glaciation.

#### 1.4 FACTEURS HISTORIQUES: GLACIATIONS DU PLÉISTOCÈNE

Depuis l'apparition de la phylogéographie, de nombreuses études ont mis en évidence l'importance capitale des fluctuations climatiques du Pléistocène lors du façonnement de la diversité génétique de nombreuses espèces, notamment chez les plantes et les organismes aquatiques (Demesure et al. 1996; Hewitt 1996; Dumolin-Lapègue et al. 1997; Bernatchez et Wilson 1998; Colbourne et al. 1998; Gomez et al. 2000; Brunner et al. 2001; Wares et Cunningham 2001; Petit et al. 2002). Certaines de ces études ont aussi permis de démontrer l'existence de refuges glaciaires et de voies de dispersion auparavant insoupçonnés par la biogéographie traditionnelle (Bernatchez et Dodson 1991). Il importe donc de prendre en considération l'impact de ces importantes fluctuations climatiques lors de l'étude de la mise en place de la diversité génétique des populations.

Les derniers millions d'années ont vu plusieurs ères glaciaires se succéder et modeler la surface de la terre (Pielou 1991). Depuis le début du Pléistocène, il y a 2,5 millions d'années, les températures chutent et les glaciers envahissent les continents de l'hémisphère nord environ tous les 100 000 ans (Pielou 1991). Lors de ces périodes, le territoire se retrouve enfoui sous d'épaisses couches de glace, forçant ainsi les espèces animales et végétales à chercher refuge dans les espaces libres de glaciers. Ces périodes sont ensuite suivies de courtes périodes interglaciaires, où le retrait des glaciers permet la colonisation des nouveaux habitats disponibles par différentes espèces (Pielou 1991).

La dernière glaciation ayant affecté le nord-est de l'Amérique du Nord est la glaciation Wisconsinienne, qui s'est étendue de -23 000 ans à environ -8 000 ans (Flint 1957). Comparativement aux autres régions de l'hémisphère nord, l'Amérique du Nord a été particulièrement touché par cette glaciation (Fulton et Prest 1987). Au maximum de la glaciation, la calotte glaciaire Laurentienne couvrait la majeure partie de l'Amérique du Nord, s'étendant à l'ouest jusqu'aux montagnes Rocheuses, à l'est jusqu'à l'océan Atlantique et au sud jusqu'au 36° parallèle nord (Fulton et Prest 1987; Wilson et al. 2000). La présence de ce glacier a eu de profonds effets sur le continent nord-américain. Les conditions climatiques ont été altérées, la topographie du territoire a subi d'importants changements et les habitats occupés par les espèces animales et végétales ont été considérablement bouleversés (Briggs 1986; Fulton et Prest 1987; Pielou 1991; Wilson et al. 2000).

L'avancée de la calotte glaciaire a aussi forcé les espèces animales et végétales habitant le continent à se déplacer en marge du territoire couvert de glace. De plus, cette période a été le témoin de nombreuses extinctions parmi ces espèces. Par exemple, en Amérique du Nord, de 35 à 40 espèces de gros mammifères comme le mammouth, le tigre à dents de sabre et le castor géant, se sont éteintes vers la fin de la période glaciaire (Pielou 1991; Bennett 1997). Des extinctions massives ont aussi été observées sur d'autres continents, notamment en Europe et en Amérique du Sud (Pielou 1991; Bennett 1997).

Les conditions inhérentes à la présence du glacier sur le continent ont aussi occasionné une réduction des effectifs de nombreuses espèces (Bailey et Smith 1981; Pielou 1991). En effet, la diminution du nombre d'habitats disponibles et les conditions de vie changeantes

ont causé la mort de plusieurs individus appartenant à différentes espèces animales et végétales, réduisant ainsi de façon considérable la taille des populations. Ces goulots d'étranglement ont ainsi causé une perte de diversité génétique pour plusieurs espèces (Bernatchez et Dodson 1991; Demesure et al. 1996; Grivet et Petit 2003; Miller et Senanan 2003).

Au maximum de la dernière glaciation, on retrouvait les espèces distribuées dans différents refuges glaciaires situés aux abords du glacier. Ainsi, en Amérique du Nord, les espèces animales et végétales étaient retrouvées principalement dans trois refuges: le refuge Béringien, le refuge du Mississippi et le refuge Atlantique (Pielou 1991). Le refuge Béringien était situé au nord-ouest du continent, le refuge du Mississippi était situé au sud de la calotte glaciaire et à l'ouest des Appalaches alors que le refuge Atlantique était situé au sud du glacier, mais à l'est des Appalaches (Crossman et McAllister 1986). En plus de ces principaux refuges, les espèces animales et végétales étaient aussi retrouvées dans quelques refuges de moindre taille : le refuge Nahanni, le refuge du Missouri et le refuge Acadien (Crossman et McAllister 1986; Bernatchez et Dodson 1991; Pielou 1991). Les populations d'une même espèce ont ainsi pu se retrouver isolées dans différents refuges, sans possibilité d'échanger des migrants (Pielou 1991). Cet isolement a eu des répercussions importantes sur la diversité génétique des espèces. En effet, les populations isolées dans différents refuges glaciaires ont évolué de façon indépendante et leur bagage génétique a divergé pendant les milliers d'années de séparation, menant à la différenciation de ces populations (Avisé 1992; Bernatchez et Dodson 1991; Taberlet et Bouvet 1994; Wilson et al. 1996; Angers et Bernatchez 1998; Arbogast 1999; Franck et al. 2001).

L'isolement des espèces (et des populations) dans les différents refuges s'est prolongé jusqu'au début de la période de déglaciation, qui a commencé vers – 15 000 ans et s'est terminée vers – 8 000 ans avec la disparition complète de la calotte Laurentienne (Flint 1957). Durant cette époque, les énormes quantités d'eau libérées par la fonte de la calotte glaciaire formèrent de gigantesques lacs pro-glaciaires situés en marge du glacier. Ces lacs jouèrent un rôle important lors de la recolonisation du territoire car ils constituèrent de véritables voies de dispersion pour les espèces aquatiques (Bailey et Smith 1981). Par exemple, chez les poissons, ces lacs ont permis à des populations auparavant isolées dans différents refuges d'entrer à nouveau en contact (Billington et Hebert 1988; Bernatchez et Dodson 1991; Danzmann et al. 1998; Wilson et Hebert 1998; Lu et al. 2001; Turgeon et Bernatchez 2001).

La dispersion post-glaciaire a aussi été conditionnée par les capacités physiologiques des espèces. Par exemple, chez les poissons, il est présumé que la dispersion des espèces est étroitement reliée à des caractéristiques physiologiques telles que la tolérance à la température de l'eau, la tolérance à la salinité ainsi que les capacités natatoires (Bailey et Smith 1981; McAllister et al. 1986, Lacasse et Magnan 1993). Par exemple, la distribution actuelle de différentes espèces de poissons d'eau douce dans des lacs de haute altitude du Bouclier Laurentien est directement reliée à leurs capacités physiologiques (Lacasse et Magnan 1993). En effet, suite au retrait des glaciers, seuls les salmonidés auraient eu les capacités physiologiques nécessaires pour coloniser ces lacs. Il est présumé que les autres espèces de poissons n'auraient eu la possibilité de se disperser dans le territoire que beaucoup plus tard, après le retrait de la mer de Champlain, rendant ainsi ces lacs non disponibles à la colonisation par des espèces comme le mulot perlé (*Semotilus margarita*) et le meunier noir (*Catostomus commersoni*). Ces espèces n'ont colonisé ces lacs que

récemment, suite à leur introduction par des pêcheurs, expliquant ainsi leur présence aléatoire dans ces lacs (Lacasse et Magnan 1993).

Les glaciations du Pléistocène ont eu une influence considérable sur l'histoire évolutive d'une grande partie des espèces animales et végétales actuelles. En effet, la distribution actuelle de ces espèces résulte de l'influence conjointe de leurs origines glaciaires et de leurs patrons de dispersion qui, associés à leurs capacités physiologiques, ont déterminé le moment de la migration. De plus, la colonisation du territoire par des populations de différents refuges glaciaires est en partie responsable de la mosaïque de diversité génétique observée actuellement. On peut donc dire que la distribution et la structure génétique actuelle des espèces sont un reflet des processus historiques ayant affecté ces espèces.

### 1.5 FACTEURS CONTEMPORAINS

Les glaciations du Pléistocène ont sans contredit eu un rôle majeur à jouer lors du façonnement de la diversité génétique d'un grand nombre d'espèces. Cependant, l'action combinée de plusieurs facteurs contemporains, tels que les mutations, la dérive génique, la taille efficace des populations et les fluctuations démographiques, la migration et la sélection, a pu avoir aussi une importance capitale lors de ce processus (Storz et al. 2002; Angers et al. 2003; Glinka et al. 2003; Vucetich et Waite 2003; Akey et al. 2004).

Les mutations consistent en des modifications du matériel génétique par le biais de substitutions, d'insertions, de délétions et de réarrangements de segments chromosomiques (Hartl et Clark 1997). Les mutations ont comme conséquence l'introduction de nouveaux allèles dans les populations. L'effet des mutations est donc d'apporter un changement dans les fréquences alléliques des populations conduisant à une augmentation de la divergence

génétique entre les populations (Di Rienzo et al. 1994; Estoup et al. 1995; Estoup et al. 1998; Angers et al. 2000). De plus, les mutations s'accumulant dans les populations, leurs effets deviennent plus considérables avec le temps (Haldane 1937; Muller 1950; Chao 1990). Par conséquent, les mutations sont une force évolutive favorisant la diversification des populations.

La dérive génique est la variation stochastique des fréquences alléliques à l'intérieur des populations causée par la reproduction d'un nombre limité d'individus. L'effet à long terme de la dérive génique est de conduire à une perte de diversité génétique à l'intérieur des populations (Buri 1956). L'ampleur de ce phénomène est d'autant plus importante pour les populations de petites tailles (Dobzhansky et Pavlovsky 1957). La dérive génique, en modifiant les fréquences alléliques de façon aléatoire et indépendante pour chacun des loci, conduit à la différenciation progressive entre les populations. La dérive génique est donc un processus entraînant une diminution de la diversité génétique à l'intérieur des populations, mais une augmentation de la divergence génétique entre les populations. Cependant, la perte de variabilité génétique causée par l'effet de la dérive génique à l'intérieur des populations peut être limitée par l'introduction de nouveaux allèles grâce à l'effet des mutations. Cet état d'équilibre entre ces deux forces antagonistes, qui limite la perte de variabilité génétique à l'intérieur des populations, est nommé équilibre mutation dérive (Kimura 1968).

Dans une population, tous les individus ne participent pas au processus de reproduction de façon équivalente. Certains individus ont un très grand succès reproducteur alors que d'autres ne participent pas au processus de reproduction. La taille efficace d'une population peut donc être définie comme étant le nombre d'individus participant réellement à la

reproduction. D'un point de vue théorique, la taille efficace désigne la taille d'une population idéale ayant un niveau de dérive génique similaire à celui observé dans la population sous étude (Wright 1931, 1938; Kimura et Crow 1963 ; Crow et Denniston 1988; Caballero 1994). De nombreux facteurs vont modifier la différence entre la taille efficace et la taille réelle d'une population : le ratio mâles / femelles, la variance du succès reproducteur, la taille des générations précédentes ainsi que le patron de dispersion des individus (Wright 1969; Borlase et al. 1993; Briton et al. 1994; Woodworth et al. 1994; Hartl et Clark 1997). Tous ces facteurs vont faire en sorte que la taille efficace d'une population peut être beaucoup plus petite que la taille réelle de la population (Frankham 1995). La taille efficace est donc un paramètre très important à prendre en considération lors de l'étude de la structure génétique des populations car, selon ses caractéristiques biologiques et écologiques, une population de grande taille peut se comporter comme une population de petite taille au niveau génétique.

En situation naturelle, il arrive fréquemment que les populations subissent des fluctuations démographiques au fil des années. Parmi les événements démographiques ayant une influence importante sur la différenciation entre les populations, on retrouve les goulots d'étranglement (bottlenecks) et les effets fondateurs. Un goulot d'étranglement a lieu lorsque l'effectif d'une population est réduit de façon dramatique (Hartl et Clark 1997). Pour sa part, un effet fondateur peut être défini comme la formation d'une nouvelle population par un petit nombre d'individus fondateurs. Ce petit nombre de colons va apporter avec lui seulement une faible fraction de la variabilité génétique totale présente dans la population d'origine (Mayr 1963). Les goulots d'étranglement et les effets fondateurs vont avoir des conséquences similaires au niveau génétique. Ces conséquences consisteront en une diminution de la variabilité génétique et en un changement dans les

fréquences alléliques dans la population affectée (Baker et Moeed 1987; McCommas et Bryant 1990; Packer et al. 1991; Frankham 1997; Cabe 1998). Les fluctuations démographiques peuvent donc influencer profondément la structure génétique des espèces, en accélérant la différenciation entre les populations par l'action de la dérive génique.

Les goulots d'étranglement et les effets fondateurs laissent une signature moléculaire particulière sur la diversité des populations. En effet, ces événements provoquent une réduction du nombre d'allèles et de  $H_E$  (Nei 1987) des loci polymorphes dans les populations affectées. Puisque la perte d'allèles est plus rapide que la réduction de  $H_E$ , on retrouvera dans les populations affectées un excès de  $H_E$  par rapport à ce qui est attendu en fonction de l'équilibre mutation dérive. Les populations ayant subi des fluctuations démographiques posséderont donc un nombre significatif de loci démontrant un excès de  $H_E$  par rapport au nombre d'allèles observés (Cornuet et Luikart 1996). Les goulots d'étranglement et les effets fondateurs laissent aussi une signature particulière sur la diversité des loci microsatellites. En effet, dans les populations affectées, on observe une réduction du nombre d'allèles possédant une basse fréquence dû à l'action de la dérive génique. L'étendue totale des allèles, pour sa part, n'est pas nécessairement réduite. Par conséquent, le ratio du nombre d'allèles sur l'étendue des allèles est plus petit dans les populations ayant subi des fluctuations démographiques que dans les populations à l'équilibre mutation dérive (Garza et Williamson 2001). Ces différentes signatures moléculaires peuvent donc être utilisées de façon à détecter si les goulots d'étranglement et les effets fondateurs ont eu un rôle à jouer lors du façonnement de la structure génétique des populations (Piry et al. 1999; Garza et Williamson 2001).



La migration peut elle aussi avoir une grande influence sur l'ampleur de la différenciation entre les populations (Cabe et Alstad 1994). La migration consiste en un échange d'individus (de matériel génétique) d'une population vers une autre population (Hartl et Clark 1997). D'un point de vue génétique, pour que la migration soit efficace, il doit y avoir reproduction du migrant dans sa nouvelle population. Le matériel génétique du migrant se retrouve ainsi intégré dans la population d'accueil (Hartl et Clark 1997). La migration amène un changement dans les fréquences alléliques de la nouvelle population (Hansen et al. 1995; King et Lawson 1995; Castric et Bernatchez 2003). L'effet de la migration est d'homogénéiser les fréquences alléliques, donc de réduire la divergence génétique, entre les populations (Wright 1940). Ainsi, en fonction de son intensité, la migration va plus ou moins contrecarrer l'effet de la dérive génique et des mutations.

Finalement, la sélection naturelle est elle aussi un facteur jouant un rôle de premier plan lors de la différenciation des populations. La sélection est une force évolutive agissant de telle sorte que les différents génotypes présents dans une population ne participent pas de façon égale à la constitution génotypique de la génération suivante (Hartl et Clark 1997). Les individus possédant un génotype leur conférant un avantage sélectif (par rapport aux autres génotypes) laisseront un plus grand nombre de descendants à la génération suivante. Il y aura donc une augmentation de la fréquence des génotypes conférant un avantage sélectif et, par conséquent, un changement des fréquences alléliques dans la population au niveau de ce gène (Allison 1954a,b; Koehn et al. 1980; Cavener et Clegg 1981; McKechnie et Geer 1993; Harding et al. 2000). Contrairement à la dérive génique, le changement des fréquences alléliques par la sélection ne s'effectue pas de façon stochastique. De plus, la sélection ne modifie pas les fréquences alléliques de tous les loci. Elle n'affecte que les gènes ou les loci fortement liés à ces gènes (Marshall et Allard 1970; Martinez et Levinton

1996). La sélection, lorsqu'elle est directionnelle ou diversificatrice, constitue donc une force évolutive susceptible de modifier la constitution génétique des populations.

Les mutations, la migration et la sélection, ainsi que la dérive génique associée à la taille efficace des populations et aux fluctuations démographiques, sont des forces évolutives jouant un rôle primordial lors de la mise en place de la diversité génétique des populations. Certains de ces facteurs, tels que les mutations, la dérive génique et la sélection, favorisent la différenciation entre les populations alors que la migration favorise plutôt leur homogénéisation. De plus, tous ces facteurs agissent de manière différente dans différentes espèces et populations. Associés à l'action des événements historiques, ils contribuent donc tous au façonnement de la diversité génétique des populations. La distribution et la structure génétique actuelle des espèces sont donc à la fois un reflet des processus historiques et contemporains affectant ces espèces.

#### 1.6 OBJECTIFS DE L'ÉTUDE

Les facteurs historiques (colonisation post-glaciaire, refuges glaciaires, etc.) ont laissé leur trace et les facteurs contemporains (dérive génique, migration, mutations et sélection) se trouvent toujours à l'œuvre aujourd'hui dans les populations. Par leurs actions, ils ont contribué et contribuent encore à façonner la structure génétique des populations en agissant de manière différente et aussi différemment chez différentes espèces et populations. Par conséquent, l'obtention d'une structure génétique similaire pour des populations provenant de différentes espèces est improbable.

Cependant, de très fortes pressions environnementales peuvent avoir modulé le façonnement de cette structure, résultant ainsi en l'obtention d'une structure génétique

congruente pour différentes espèces. Par exemple, plusieurs espèces de vertébrés du Canada et des Etats-Unis présentent des discontinuités génétiques au niveau de leurs aires de répartition. En effet, on retrouve chez l'écureuil volant (*Glaucomys sabrinus* - Arbogast 1999), l'ours noir (*Ursus americanus* - Cronin et al. 1991; Byun et al. 1997; Wooding et Ward 1997), la grenouille léopard (*Rana pretiosa* – Green et al. 1996), la salamandre géante (*Dicamptodon* – Good 1989) et le bruant fauve (*Passerella iliaca* – Zink 1996) une dichotomie génétique marquée entre les groupes situés à l'ouest et à l'est de l'aire de distribution. L'avancée de l'inlandsis de la Cordillère lors de la dernière glaciation est probablement responsable du façonnement de cette dichotomie génétique retrouvée chez toutes ces espèces. En effet, la présence de ce glacier aurait empêché les échanges géniques entre les groupes situés à l'ouest et à l'est du glacier, conduisant ainsi à l'isolement et à la différenciation de ces groupes. Ainsi, cet événement aurait modulé de façon importante le façonnement de la structure génétique de ces espèces, résultant en l'obtention d'une structure génétique similaire pour un groupe très diversifié d'espèces (Arbogast 1999).

L'objectif de cette étude consiste à déterminer le rôle joué par les facteurs historiques et contemporains lors du façonnement de la structure génétique de différentes espèces de poissons. Pour ce faire, la diversité génétique de trois espèces de poissons retrouvées en sympatrie dans des lacs du Bouclier Laurentien mais possédant des caractéristiques physiologiques et écologiques différentes sera comparée à l'aide de marqueurs moléculaires situés sur l'ADN mitochondrial et nucléaire. Ainsi, la comparaison de ces marqueurs devrait permettre de déterminer comment la diversité génétique est affectée par les différents facteurs historiques et contemporains. La comparaison de différentes espèces de poissons devrait permettre de déterminer si la diversité génétique de ces espèces a principalement été façonnée par les caractéristiques propres à chaque espèce ou si de fortes

pressions environnementales ont eu un rôle important à jouer lors du façonnement de cette diversité.

L'utilisation des marqueurs mitochondriaux et nucléaires permettra d'avoir une vue d'ensemble des différentes échelles temporelles à l'étude. Par conséquent, il sera possible de déterminer comment la diversité génétique est affectée par les différents processus évolutifs. L'analyse du polymorphisme des marqueurs situés sur l'ADN mitochondrial permettra de mettre en lumière le rôle joué par les processus historiques lors du façonnement de la diversité génétique des populations. Il sera donc possible de déterminer de quels refuges glaciaires proviennent les populations à l'étude ainsi que l'influence de la dispersion historique sur la structure génétique actuelle des populations. D'un autre côté, l'analyse du polymorphisme des marqueurs situés sur l'ADN nucléaire permettra de déterminer l'influence des processus contemporains lors du façonnement de la structure génétique de ces populations. Il sera donc possible de déterminer l'importance relative de la dérive génique, des mutations, de la migration et de la sélection sur la structure de la diversité génétique des populations. De plus, l'utilisation de marqueurs situés sur l'ADN nucléaire permettra de déterminer si les populations à l'étude ont déjà subi des fluctuations démographiques, qu'elles soient récentes ou plus anciennes. Les marqueurs situés sur l'ADN mitochondrial et nucléaire vont donc réagir de façon différente aux divers processus évolutifs et fourniront un portrait complémentaire des événements passés et actuels (Hey 1997; Jorde et al. 1998).

L'approche de phylogéographie comparée utilisée dans cette étude devrait permettre de faire la distinction entre les caractéristiques propres à chaque espèce et les patrons communs à toutes les espèces ayant influencé le façonnement de la diversité génétique de

ces poissons. Les trois espèces de poissons à l'étude sont le brochet (*Esox lucius*), le corégone (*Coregonus clupeaformis*) et la perchaude (*Perca flavescens*). Ces poissons ont été choisis car, malgré le fait qu'ils possèdent une distribution géographique similaire, ils possèdent des caractéristiques physiologiques et écologiques différentes. Par exemple, le corégone possède de meilleures capacités natatoires et une meilleure tolérance aux basses températures et à la salinité de l'eau que la perchaude et le brochet (Scott et Crossman 1974; Bailey et Smith 1981; Crossman et McAllister 1986). Ainsi, ces caractéristiques pourraient lui avoir permis de coloniser le territoire avant les autres espèces. D'un autre côté, le brochet possède de plus petites tailles de populations que la perchaude. Cette caractéristique pourrait avoir joué un rôle important sur l'ampleur de la différenciation génétique retrouvée entre les populations de ces espèces. La comparaison de ces trois espèces devrait donc permettre de découvrir comment la diversité génétique est affectée par les caractéristiques de ces espèces et ainsi déterminer les facteurs responsables de la distribution géographique de la diversité génétique de ces poissons.

Le grand brochet (*Esox lucius*) est un poisson de la famille des Ésocidés qui possède une distribution circumpolaire dans l'hémisphère nord (Scott et Crossman 1974). La distribution de ce poisson au Québec couvre tout le territoire, à l'exception des maritimes (Scott et Crossman 1974). Le grand brochet habite les lacs et les rivières à l'eau claire, chaude et peu profonde (Scott et Crossman 1974). Ce prédateur est sédentaire et tolère très peu les changements de température et de salinité dans son habitat (Scott et Crossman 1974). La durée de vie du grand brochet varie en fonction de la latitude et se situe généralement entre 10 à 26 ans pour les populations du Canada. Tout comme la durée de vie, l'âge à maturité de ce poisson est corrélé avec la latitude. Ainsi, les grands brochets du Canada atteignent leur maturité sexuelle entre 2 et 6 ans (Scott et Crossman 1974). De

façon générale, les grands brochets ont de très petites tailles de populations (Healy et Mulcahy 1980; Miller et Kapuscinski 1997). Par exemple, une moyenne de 16,1 brochets / ha a été observée dans plusieurs lacs du Wisconsin (Margenau et al. 1998). D'après plusieurs études, cette caractéristique expliquerait le peu de variation génétique observée chez les populations de brochets en Amérique du Nord (Seeb, Seeb, Oates et Utter 1987; Miller et Kapuscinski 1996,1997; Miller et Senanan 2003).

Le grand corégone (*Coregonus clupeaformis*) est un salmonidé ayant une distribution circumpolaire dans tout l'hémisphère nord (Scott et Crossman 1974). Au Québec, on le retrouve dans la plupart des grands lacs et des rivières ainsi que dans les eaux côtières saumâtres des Baies James, d'Hudson et d'Ungava (Bernatchez et Dodson 1991). Le grand corégone est une espèce d'eau froide qui se nourrit préférentiellement d'invertébrés benthiques et de petits poissons (Scott et Crossman 1974). Dans certains lacs du Québec cohabitent deux formes distinctes de corégones, soit les formes naines et normales qui se distinguent par des taux de croissance différents, différentes tailles à maturité ainsi que différents modes de nutrition (Bernatchez et al. 1999). De façon générale, les grands corégones atteignent leur maturité sexuelle entre 3 et 6 ans (Bence et Ebener 2002) et vivent environ 13-14 ans (Scott et Crossman 1974). Au cours des dernières années, l'analyse de la diversité génétique des populations de corégones a révélé des niveaux élevés de variabilité génétique dans les populations d'Amérique du Nord (Bernatchez et Dodson 1991 ; Bernatchez et al. 1999). De plus, ces études ont révélé un important polymorphisme au niveau de l'ADN mitochondrial dans ces populations, révélant ainsi que ces poissons auraient survécu dans plusieurs refuges glaciaires lors de la dernière glaciation (Bernatchez et Dodson 1991; Bernatchez et al. 1999).

La perchaude (*Perca flavescens*) est un poisson de la famille des Percidés ayant une distribution presque circumpolaire dans l'hémisphère nord (Scott et Crossman 1974). Au Québec, son territoire s'étend de la Gaspésie jusqu'à la frontière avec l'Ontario et la limite nord de son aire de distribution se situe en Abitibi (Scott et Crossman 1974). Les perchaudes sont des poissons prolifiques ayant de grandes tailles de populations. Par exemple, une densité moyenne de 156 perchaudes / ha a été observée dans un lac du Michigan (Hodgson et al. 1998). Ces poissons atteignent leur maturité sexuelle vers l'âge de 3-4 ans et peuvent vivre jusqu'à 10 ans (Scott et Crossman 1974). On les retrouve dans une grande variété d'habitats, aussi bien dans les grands lacs que dans les rivières et les étangs et ce, à différentes températures (Scott et Crossman 1974). Les perchaudes vivent principalement en eau douce mais font occasionnellement des intrusions en eaux saumâtres (Scott et Crossman 1974). Ils se nourrissent de gros invertébrés, d'insectes immatures et d'autres espèces de poissons (Scott et Crossman 1974). Plusieurs études, effectuées principalement avec des allozymes, révèlent une faible variabilité génétique chez les populations de perchaudes en Amérique du Nord (Todd et Hatcher 1993; Strittholt et al. 1988).

Cette étude a révélé que les brochets, les corégones et les perchaudes possèdent des différences majeures dans leur histoire évolutive au niveau de la structure génétique et de la taille efficace des populations. En effet, les résultats indiquent une plus grande diversité génétique dans les populations de brochets par rapport aux populations de corégones et de perchaudes. De plus, les populations de brochets ne semblent pas avoir subi de fluctuations démographiques notables au cours des dernières années (< 10 000 ans). Ce résultat suggère que la faible différenciation observée entre les populations de brochets résulterait de grandes tailles efficaces chez ce poisson. Pour leur part, les populations de corégones et de

perchaudes présentent une plus grande différenciation génétique que les populations de brochets. Ceci pourrait être la conséquence d'effets fondateurs plus sévères pour les populations de ces espèces. Malgré ces différences dans leur histoire évolutive, ces trois espèces présentent une organisation commune de leur structure génétique. Ceci suggère que la colonisation post-glaciaire s'est effectuée de manière semblable pour ces trois espèces de poissons, montrant ainsi que les conditions environnementales prévalant suite à la dernière glaciation ont modulé de façon importante la structure génétique de ces trois espèces.



**2. ARTICLE: THE DETERMINANT ROLE OF ENVIRONMENTAL  
FACTORS IN THE PARTITIONING OF GENETIC DIVERSITY: A  
COMPARATIVE PHYLOGEOGRAPHIC CASE STUDY**

**A) DÉCLARATION DES COAUTEURS D'UN ARTICLE**

1) Identification de l'étudiant:

Marie-Claude Gagnon

M.Sc. (sciences biologiques) (2-235-1-0)

2) Liste des auteurs:

Marie-Claude Gagnon

Bernard Angers

**Titre: The determinant role of environmental factors in the partitioning of genetic diversity: a comparative phylogeographic case study.**

Article soumis le 7 octobre 2004 à *Evolution: International Journal of Organic Evolution*

3) Déclaration des coauteurs autres que l'étudiant:

À titre de coauteur de l'article identifié ci-dessus, je suis d'accord pour que Marie-Claude Gagnon inclue cet article dans son mémoire de maîtrise qui a pour titre :

**Façonnement de la diversité génétique de populations de poissons de lacs du Bouclier Laurentien.**

BERNARD ANGERS

Coauteur

21-12-04

Date

## 2.1 INTRODUCTION

The last two decades have seen the increasing contribution of phylogeography in understanding the principles and processes governing the distribution of species and component populations (Avice 2000). This study field, assisted by powerful molecular markers and theoretical models, has permitted to gather improved description of geographical distributions and phylogenetic relationships among evolutionary lineages (Bermingham and Moritz 1998). One clear achievement of many phylogeographic studies was to shed light on Pleistocene climatic fluctuations as a key factor in shaping present-day genetic structure of many species (Hewitt 1996). In particular, numerous studies have demonstrated the influence of Pleistocene glaciations in shaping the genetic structure of aquatic organisms, notably in freshwater fish species (Bernatchez and Wilson 1998 and references therein; Colbourne et al. 1998; Gomez et al. 2000; Brunner et al. 2001; Wares and Cunningham 2001).

In the northern part of North America, the effects of the glaciations were particularly severe due to the extent of the ice sheets that led to the complete deterioration of viable habitats (Pielou 1991). During these periods, populations of species inhabited refuges located at the glacier margin. Aquatic biotas were possibly geographically isolated in distinct watershed, without (or with limited) possibility of exchanging migrants, leading to differentiation among refuges (Bernatchez and Dodson 1991; Angers and Bernatchez 1998; Turgeon and Bernatchez 2001).

Continental colonisation took place only thousands of years later, during phases of deglaciation. Dispersion was facilitated by the presence of temporary hydrologic systems, resulting from the melting of glaciers that also permitted contact between previously

isolated populations (Bailey and Smith 1981). Dispersion was also conditioned by the physiological capacities (eg. swimming performance, temperature and salinity tolerance) of the species (Bailey and Smith 1981; McAllister et al. 1986). Thus, the actual distribution of freshwater fish species results from the joint influence of their refuge origins and their dispersal patterns associated to the physiological capacities that determine the timing of migration and dispersion through temporary hydrologic bridges.

The extent of differentiation among populations was also influenced by demographic events associated with the above factors. For example, in some cases, only a small number of individuals of a given species colonised new habitats. These founder events profoundly influenced the genetic structure of species, accelerating differentiation through the action of genetic drift. Although historical factors played a major role in shaping the actual genetic structure of species, contemporary factors, such as current population size and demographic fluctuations, migration and selection, may have contributed importantly to this process (Storz et al. 2002; Angers et al. 2003; Glinka et al. 2003; Vucetich and Waite 2003; Akey et al. 2004). Altogether those factors acting specifically in different species and populations make two different species exhibiting a similar distribution unlikely, unless they have been influenced by the action of a strong environmental pressure (Bermingham and Avise 1986; Bernatchez et Wilson 1998; Arbogast 1999). The comparative phylogeographic approach may be useful to shed light on the influence of such environmental pressure acting on the distribution of species (Arbogast 1999). However, one major drawback of comparative phylogeographic studies is that they often use mtDNA variation as their only source of molecular information (Bermingham and Avise 1986; Avise 1992; Hewitt 1996; Zink 1996; Bernatchez and Wilson 1998), thereby inferring only a part of the history of species.

The aim of this study was to investigate the effects of post-glacial environment on the genetic structure of species. To achieve this objective, three fish species commonly found in sympatry in Laurentian Shield lakes but displaying different ecological and physiological characteristics were compared. The species studied are the northern pike (*Esox lucius*, Esocidae), the lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*, Salmonidae) and the yellow perch (*Perca flavescens*, Percidae). This comparative phylogeographic approach is expected to allow the distinction of species-specific characteristics (eg. physiological performance and demographic history) from multi-species patterns associated to environment in the partitioning of the genetic diversity. Genetic diversity was assessed using mitochondrial DNA (mtDNA) and microsatellite loci. MtDNA is an excellent marker of historical events that affected populations. However, the large effective size and the high number of unlinked loci allow microsatellites to provide a more detailed portrait of contemporary events affecting the differentiation and structure of populations

This study reveals that the three species display major differences in their evolutionary histories in term of effective size and genetic structure at the population level. However, northern pike, lake whitefish and yellow perch presented a common signal in that the geographical organisation of their genetic structure is longitudinally delineated. This suggest that environmental conditions following the glacier retreat, such as the water flow coming from the ice sheet melting, were major determinants in the migration of the founder groups of the three species and that their colonisation follow similar processes.

## 2.2 MATERIALS AND METHODS

### 2.2.1 Model species

Northern pike is a top predator fish distributed throughout the northern hemisphere (Scott and Crossman 1974). Following the last glaciation, northern pike populations are thought to have colonized north-eastern North America from a single glacial refuge (Mississippi). Over the past years, the genetic structure of northern pike populations has been studied several times with markers such as allozymes (Healy and Mulcahy 1980; Seeb et al. 1987), mtDNA (Desjardins 1996; Maes et al. 2003) and microsatellites (Miller and Kapuscinski 1996, 1997; Hansen et al. 1999; Senanan and Kapuscinski 2000). In each study, low levels of genetic variation have been observed, a result that is thought to be the consequence of small population sizes (reviewed in Miller and Senanan 2003).

Lake whitefish also exhibits a boreal circumpolar distribution (Scott and Crossman 1974). Previous studies have shown that lake whitefish have colonized north-eastern North America from several glacial refuges (Mississippi, Atlantic and Acadian) following last glaciation (Bernatchez and Dodson 1991). Genetic variability of lake whitefish populations have been intensely studied over the past years with mtDNA and microsatellites markers (reviewed in Bernatchez et al. 1999). Relatively high levels of genetic variation have been found in lake whitefish populations with both genomes.

Yellow perch is a very prolific species that can be found in lakes and rivers of North America (Scott and Crossman 1974). Yellow perch of the north-eastern part of the continent is thought to originate from two glacial refuges (Mississippi and Atlantic) (Todd and Hatcher 1993). Previous studies of genetic variation in this species have revealed little

mtDNA variation (Billington and Herbert 1991; Billington 1993, 1996), very low levels of allozyme variation (Leary and Brooke 1982; Strittholt et al. 1988; Todd and Hatcher 1993) and higher levels of microsatellites polymorphism (Leclerc et al. 2000). This low level of genetic variability is thought to be the result of bottleneck events that occurred during last glaciation (Todd and Hatcher 1993).

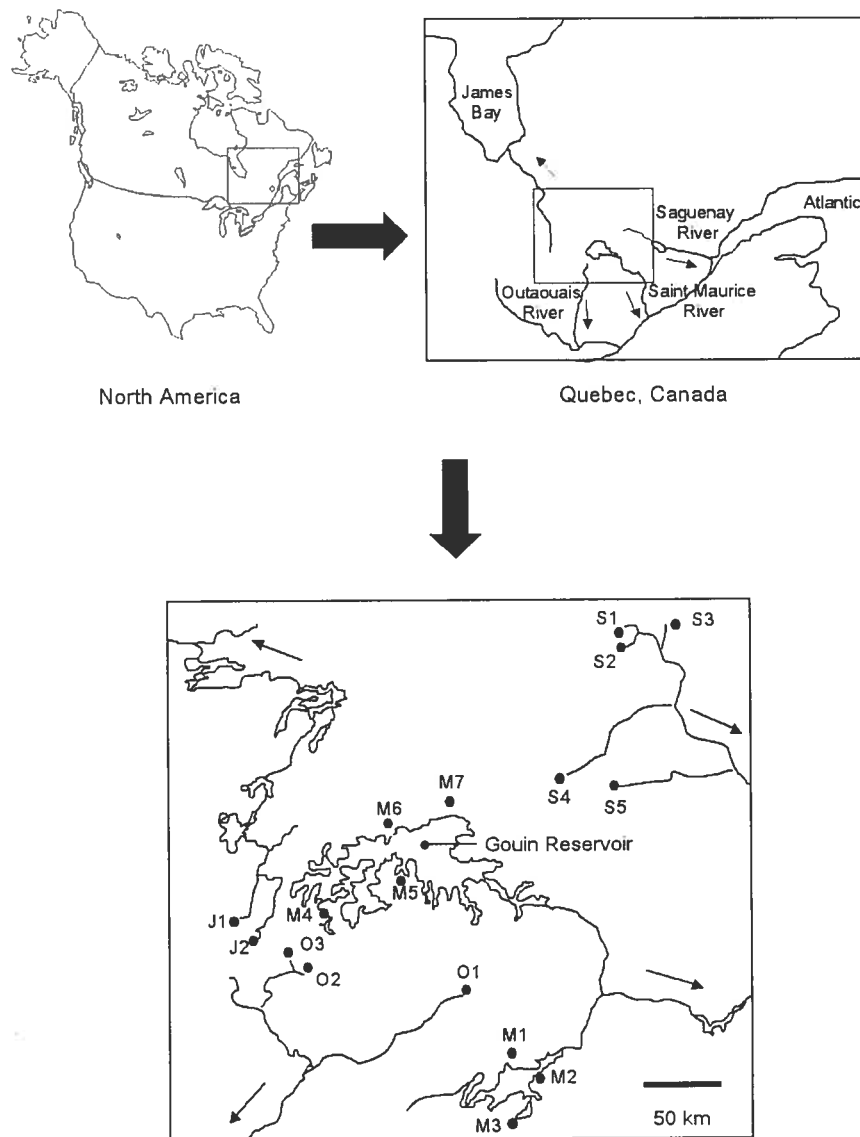
### 2.2.2 Sampling

Populations of northern pike, lake whitefish and yellow perch were sampled in four major watershed of Laurentian Shield: Saguenay River (S), Saint-Maurice River (M), Outaouais River (O) and James Bay (J) (Figure 1; Table I). The sampling sites were located between 47° 51' N and 74° 77' W in a region covering ca. 45,000 km<sup>2</sup>. This region is exclusively continental and presents an homogenous topology, with lake altitude ranging from 406 to 451 meters. Nine to eleven populations have been sampled for each species. For each population, 12 to 15 individuals have been analysed for a total of 402 individuals (Table I).

**Table I**

Drainage and sample size of each population for northern pike (Eslu), lake whitefish (Cocl) and yellow perch (Pefl).

	St-Maurice River							James Bay		Saguenay River					Outaouais River			Total
	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	J1	J2	S1	S2	S3	S4	S5	O1	O2	O3	
Eslu	12	-	-	15	15	15	12	-	15	-	15	-	-	12	15	15	-	141
Cocl	-	15	-	15	15	12	12	15	-	15	-	-	12	-	-	-	15	126
Pefl	-	15	12	12	12	12	12	12	-	-	-	12	12	-	12	12	-	135



**Figure 1**

Location of the study site in Quebec, Canada. The close-up represent the location of the sampling sites along the four major watershed of the region surveyed: Saguenay River (S1 to S5), Saint-Maurice River (M1 to M7), Outaouais River (O1 to O3) and James Bay (J1 and J2). Arrows indicated the direction of water flow.



### 2.2.3 Mitochondrial DNA analysis

Total DNA was extracted from a piece of lyophilised muscles by proteinase K digestion followed by phenol-chloroform purification and ethanol precipitation (Sanbrook et al. 1989). Mitochondrial DNA variation was detected using single-strand conformation polymorphism (SSCP) (Orita et al. 1989; Sheffield et al. 1993) on a segment of the control region (D-loop). The D-loop segment was PCR amplified using the primers Tpro-2 (Gilbert et al. 1988) and CR1-R (AANNGTTGGTNGKYTCTTACT) designed from a consensus sequence of several species. Amplification reactions were carried out in 12.5 µl volumes including 1.25 µl of 10X reaction buffer, 0.2 mM of each dNTP, 0.3 µM of each of the primers, 0.5 U of *Taq* DNA polymerase and approximately 100 ng of template DNA. Conditions were as follow: 1 cycle of 30 sec at 92°C, 45 cycles of 15 sec at 92°C, 30 sec at 45°C (annealing temperature), 1 min at 68°C and 1 cycle of 10 min at 68°C. Amplification products were electrophoresed on a nondenaturing polyacrylamide gel according to Angers and Bernatchez (1998). Amplified segments were visualised using silver nitrate staining (Bassam et al. 1991). Each of the different observed conformers, as well as similar conformers from distinct populations were cycle-sequenced and analysed using a CEQ2000 genetic analyser (Beckman Coulter).

### 2.2.4 Microsatellite analysis

Nuclear DNA variation was characterised with microsatellite loci specific for each species. Markers were selected from previous studies for their high variability. Microsatellite loci used for northern pike were Elu 19, Elu 76 and Elu 276 (Miller and Kapuscinski 1996, 1997), Elu 1, Elu 2 and Elu 10 (Hansen et al. 1999), Elu B-24 (ATTCACTTGTTGTGTCTGC, CCCTATAGCCTTCAGAGC) and Elu B-25

(TGTCTTCAACTCTAGTAG, CTGGGTAATGGAGAGAAAG) (GenBank Accession Numbers AF520594-5). Loci used for lake whitefish were Bwfl and Bwf2 (Patton et al. 1997), Cocl22 and Cocl23 (Rogers et al. 2004) and SFO-23 (Angers et al. 1995). For yellow perch, Pfla L1, Pfla L2, Pfla L3, Pfla L4, Pfla L7 et Pfla L9 (Leclerc et al. 2000) loci were used. A different forward primer for Pfla L7 (GGATTCAGTCAAAAGAACC) and reverse primer for Pfla L9 (ACTGAGATACTGCTCACG) were designed. All primer sequences are given from 5' to 3'. Amplifications reactions and programs were similar to mtDNA except that the annealing temperature was 52°C. Electrophoresis was performed on a denaturing 6% polyacrylamide (19:1 acrylamide:bis-acrylamide) gel. Silver nitrate staining was used to visualise microsatellite polymorphism.

## 2.2.5 Statistical analyses

### 2.2.5.1 DNA diversity

Mitochondrial DNA polymorphism was quantified as the number of haplotypes ( $n$ ), haplotypic diversity ( $h$ , Nei and Tajima 1981) and nucleotide diversity ( $\pi$ , Nei 1987). A minimum spanning network based on sequence variation of mtDNA haplotypes was constructed using Arlequin version 2.0 (Schneider and al. 2000). Microsatellite genetic diversity was quantified as the number of alleles per locus ( $A$ ), observed heterozygosity ( $H_O$ ) and gene diversity ( $H_E$ , Nei 1987) using the GENEPOP computer package version 3.3. (Raymond and Rousset 1995). GENEPOP was also used to test departures from Hardy-Weinberg equilibrium at each loci using the Markov chain method (Guo and Thompson 1992). Critical significance levels for multiple statistical tests were computed using sequential Bonferroni adjustments (Rice 1989). Finally, homogeneity tests of allele frequency distribution at each locus were performed using the Markov chain method

implemented in GENEPOP, in order to test the null hypothesis of no genetic differentiation between populations.

#### *2.2.5.2 Partition of the genetic diversity*

The partition of genetic diversity was quantified by computing global  $F_{ST}$  (Weir and Cockerham 1984) and  $\Phi_{ST}$  (Excoffier et al. 1992) estimates for mtDNA using Arlequin version 2.0. For microsatellites, the extent of genetic differentiation over all loci and between populations was quantified by computing global and pairwise  $F_{ST}$  estimates using GENEPOP 3.3. Genetic differentiation was also quantified by computing global and pairwise  $\rho_{ST}$  (Rousset 1996) estimates also using GENEPOP 3.3, to take into account the mutational differences among alleles. In order to determine if mutations contributed significantly to genetic differentiation, global  $F_{ST}$  and  $\rho_{ST}$  values were tested using the allele size randomizations procedure (Hardy et al. 2003) implemented in SPAGeDI 1.1 (Hardy et Vekemans 2002).

#### *2.2.5.3 Demographic parameters*

In order to detect if the populations experienced a reduction in population size, two different methods were used with nuclear markers. First, populations that exhibited a significant number of loci with heterozygosity excess given the number of observed alleles, as expected following a recent ( $< 10\,000$  years) bottleneck (Cornuet and Luikart 1996), were surveyed using the program BOTTLENECK version 1.2.02 (Piry et al. 1999). Data were analysed using both the infinite allele model (IAM) and the stepwise mutation model (SMM), even if the number of loci used in this study is lower than that recommended by Cornuet and Luikart (1996). Second, as bottlenecks may also lead to the extinction of alleles with low frequencies, the ratio of the number of alleles to the range in allele size,

“M” (Garza and Williamson 2001), was calculated for each population. It has been demonstrated that M values below 0.68 are strong indications of reduction in population size (Garza and Williamson 2001).

#### *2.2.5.4 Isolation by distance (IBD)*

Four different models were used to calculate geographic distances: a) current waterway distances, b) straight line distances, c) east-west distances and d) north-south distances. Genetic differentiation, estimated with  $F_{ST}/(1-F_{ST})$  (Rousset 1997), was compared to log-transformed geographic distances with partial Mantel tests, using the R package version 4.0 (Casgrain et Legendre 2001). The significance of Mantel’s correlation coefficient was tested using a permutation method, implemented in the R package version 4.0 (999 permutations).

#### *2.2.5.5 Genetic structure*

For microsatellites, hierarchical analysis of variance was used to determine whether there was a significant structure among populations, using AMOVA (Excoffier et al. 1992) implemented in Arlequin version 2.0. First, populations were grouped according to their drainage. Second, groups were formed with populations presenting a maximum of genetic differentiation and a minimum of geographic distance, as identified with the software Barriers (Manni et al. 2004). In this software, the Monmonier’s (1973) maximum difference algorithm is used on a Delaunay triangulation in order to identify the zones of abrupt change in the genetic landscape (Manni et al. 2004). This allows the genetic barriers existing between populations to be identified. The robustness of the genetic barriers was assessed by bootstrap as implemented in the Barriers software (Manni et al. 2004). Geographic locations were expressed in latitude and longitude coordinates and genetic

distances were estimated using the chord distance ( $D_{CE}$ ) of Cavali-Sforza and Edwards (1967). Groups were formed with populations separated by barriers possessing bootstrap values larger than 75%.

#### *2.2.5.6 Genetic differentiation*

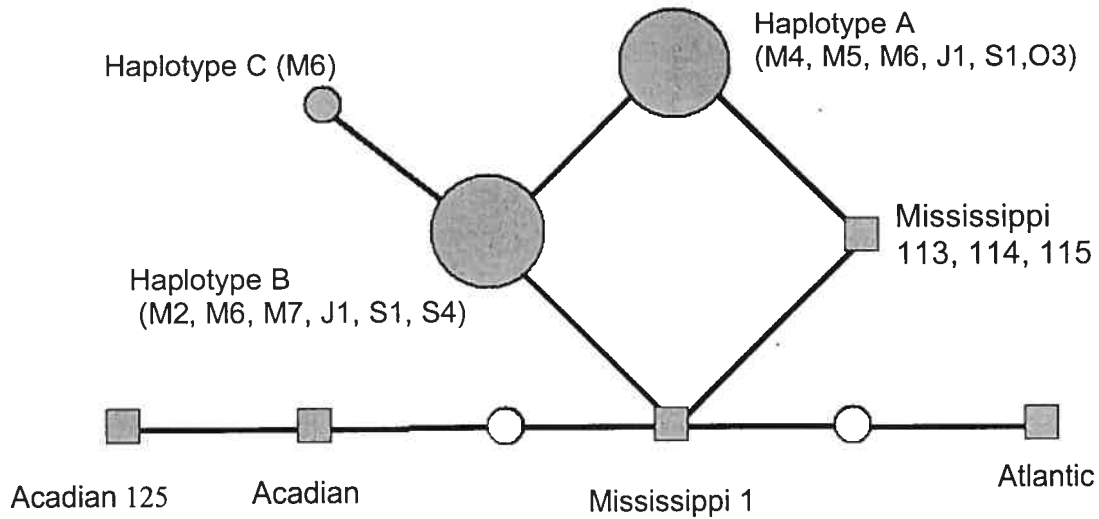
In order to assess the divergence among populations and groups found in the previous section, both  $D_{CE}$  (Cavali-Sforza and Edwards 1967) and  $(\delta\mu)^2$  (Goldstein et al. 1995) genetic distances were calculated using the Populations software version 1.2.28 (Langella 1999).

### 2.3 RESULTS

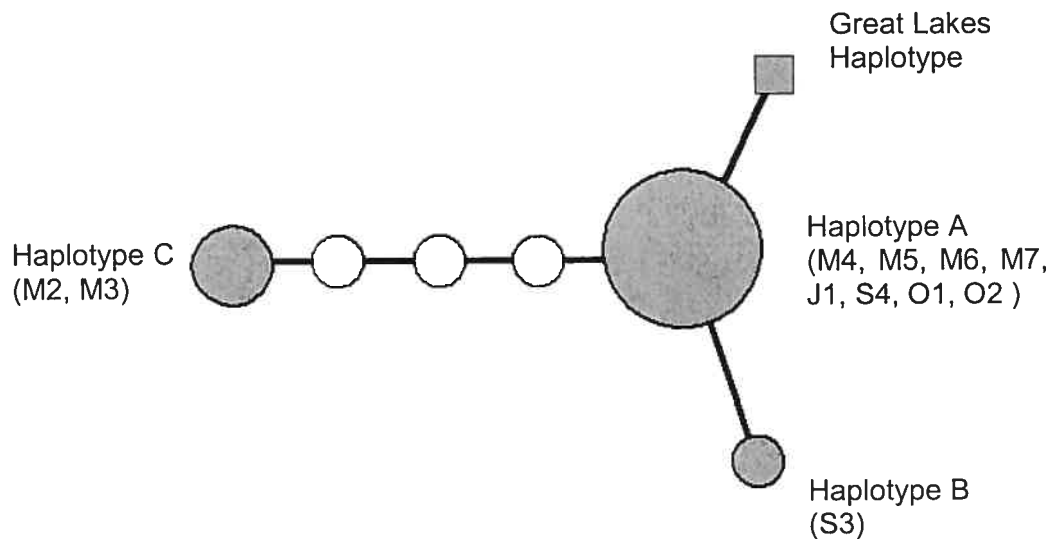
#### 2.3.1 Mitochondrial DNA diversity

No mitochondrial DNA variation was detected in the survey of a 293 bp control region segment of northern pike. For lake whitefish, the screening of a 338 bp segment revealed three closely related haplotypes differing from each other by 1 to 2 mutations (Figure 2A). Two of these variants (A and B) represented 95% of the individuals analysed. The intra-population diversity was quite low: the number of haplotypes per population was 1.6 on average and the mean haplotype diversity was 0.2128 (Appendix I). Since several populations were fixed or nearly so for different haplotypes, the overall level of genetic diversity among populations was pronounced, as revealed by  $F_{ST}$  (0.6033) and  $\Phi_{ST}$  (0.6255) estimates.

## A) Lake whitefish



## B) Yellow perch

**Figure 2**

Haplotypes network for mtDNA polymorphisms observed in A) lake whitefish (GenBank Accession Number AY854245 – AY854247) and B) yellow perch (GenBank Accession Number AY854242 – AY854244). Shaded circles represent haplotypes observed in this study but not observed previously, while surfaces correspond to their relative frequencies. Squares refer to haplotypes observed in previous studies (Lu et al. 2001 for lake whitefish and GenBank Accession Number Y14728 for yellow perch). Open circles represent missing haplotypes.

SSCP analysis of a 303 bp segment of yellow perch revealed three variants, two of them (A and B) differed by a single mutation while four to five mutations separated the haplotype C from the others (Figure 2B). As for northern pike, no diversity was observed at the population level as a single haplotype was found per population: haplotypes A, B and C were fixed in eight, one and two populations respectively. As a result, the overall level of genetic diversity among populations was maximal (1.000), for both  $F_{ST}$  and  $\Phi_{ST}$  estimates.

### 2.3.2 Nuclear DNA diversity

For each of the species examined, the microsatellite loci were generally highly polymorphic, a result in sharp contrast with that obtained for mtDNA. The number of alleles observed at loci ranged from 2 alleles (Pfla-L1) to 22 alleles (Pfla-L4) and the overall expected heterozygosity ranged from 0.162 (Bwf-2) to 0.829 (Elu-1) (Appendix 1). Some loci did not exhibit polymorphism (Elu 10, Elu76, Elu276, Cocl-22 and Pfla-L3) and were not used for the rest of the analyses. Three departures from HWE remained significant following sequential Bonferroni corrections: a single case was detected in lake whitefish ( $\alpha = 0.05$ ,  $k = 4$ ), the two others occurred in yellow perch ( $\alpha = 0.05$ ,  $k = 5$ ), but in different populations and at different loci (Appendix 1).

The overall  $F_{ST}$  and  $\rho_{ST}$  estimates were almost identical ( $0.1364 \pm 0.015$  and  $0.1396 \pm 0.020$  respectively) for northern pike, indicating that the major part of the genetic diversity was located within populations. Both values were also nearly identical ( $0.3688 \pm 0.037$  and  $0.3654 \pm 0.029$  respectively) for lake whitefish, but higher than for northern pike. The overall  $F_{ST}$  estimate of yellow perch ( $0.4012 \pm 0.039$ ) also indicated an important

proportion of genetic diversity among populations. Even if the overall  $\rho_{ST}$  estimate ( $0.5927 \pm 0.064$ ) was not significantly different than the  $F_{ST}$  estimate, it was however larger, suggesting the effect of historical isolation among populations. As indicated by the 95 % confidence intervals, all the  $F_{ST}$  and  $\rho_{ST}$  estimates were significant. This indicated that the number of loci and individuals used in this study are sufficient to address questions concerning the genetic structure of populations and species.

### 2.3.3 Demographic parameters

Bottleneck tests based on allele frequencies distribution using either of IAM and SMM models were not significant for any of the populations of the three species analysed. This indicated that populations of northern pike, lake whitefish and yellow perch did not exhibit a larger number of loci with heterozygosity excess than expected for a population at mutation/drift equilibrium and thus did not seem to have experienced recent ( $< 10\,000$  years) bottleneck. However, given the limited number of loci used in this study and the low number of polymorphic loci in several populations, the results of this test must be viewed with caution.

On the other hand, the ratio of the number of allele over the allele size distribution ( $M$ ) provided values lower than 0.68 (Appendix I) for several populations, thus strongly indicating past reduction in population sizes (Garza and Williamson 2001). These populations may have experienced historical reductions in size as no recent bottlenecks were detected (previous test). For northern pike, the calculated values of  $M$  were generally high ( $M > 0.7$ ) except for three populations. At the opposite, for lake whitefish as well as yellow perch,  $M$  values calculated over all loci as well as over individual locus were



generally low ( $M < 0.7$ ). Moreover, a strong and significant correlation was observed between  $M$  values and longitude only for these species ( $p = 0.016$  for both lake whitefish and yellow perch). This indicates that the westernmost populations of these species (J1 for both lake whitefish and yellow perch) did not experience any bottlenecks while the easternmost populations (M2, S1, S4 and M2, M3 for lake whitefish and yellow perch respectively) experienced the strongest ones. Interestingly, this trend was not observed when  $M$  values were related to latitude. The tests failed to detect a population that likely have experienced a recent and serious bottleneck: in yellow perch, S3 population was fixed for three loci out of four and the variable locus exhibited a very low gene diversity ( $H_E = 0.017$ , Appendix I). Consequently, this population have been left out of the rest of the analyses.

#### 2.3.4 IBD

Table II reports IBD results for comparisons of pairwise  $F_{ST}/(1-F_{ST})$  values to geographic distances. Significant and positive correlations were observed between pairwise  $F_{ST}/(1-F_{ST})$  values and both straight line and east-west distances for yellow perch (after removing drainage effects). The same correlations were still observed when populations characterised by the highly divergent mtDNA haplotype (M2 and M3) were removed from the analyses. This indicates that the more yellow perch populations are distant along a longitudinal axis, the more genetically different they are. Other correlations did not remain significant following a sequential Bonferroni correction.

### 2.3.5 Genetic structure

When northern pike populations were grouped by drainage, the hierarchical AMOVA revealed that there was more variation among populations of a same group than among groups (Table III). On the other hand, significant  $F_{CT}$  was detected when populations were grouped according to geographical proximity, as inferred with Barrier analysis. The genetic barriers revealed by this analysis are not related to any physical barriers actually known. Geographical organisation is different of the drainage in that some groups comprise populations from different drainages. However, the more striking result is that the groups displayed a clear longitudinal organisation (Figure 3).

**Table II**

Results of partial Mantel tests ( $r_M$  = Mantel statistic,  $p$  = probability) for relationships between  $F_{ST}/(1-F_{ST})$  estimated from microsatellites and different geographic distances (waterway, straight line, east-west and north-south) for northern pike (Eslu), lake whitefish (Cocl) and yellow perch (Pefl). The matrice of geographic distance  $X_1$  was compared to the matrice of genetic distance after removing the effects of the matrice of geographic distance  $X_2$ . For yellow perch, the S3 population was not included in the analyses. Results in bold remain significant following sequential Bonferroni corrections ( $\alpha = 0.05$ ,  $k = 2$ ).

Distances models	Eslu		Cocl		Pefl		Pefl <sup>1</sup>	
$X_1 / X_2$	$r_M$	$p$	$r_M$	$p$	$r_M$	$p$	$r_M$	$p$
Waterway / Straight line	-0.111	0.251	0.380	0.028	-0.085	0.300	0.158	0.130
Straight line / Waterway	0.355	0.046	-0.160	0.263	<b>0.456</b>	<b>0.001</b>	<b>0.542</b>	<b>0.008</b>
East-west / Waterway	0.095	0.307	-0.242	0.119	<b>0.452</b>	<b>0.015</b>	<b>0.642</b>	<b>0.010</b>
North-south / Waterway	0.119	0.279	0.055	0.426	0.100	0.313	0.080	0.462

<sup>1</sup> Yellow perch populations except M2 and M3

Significant results were obtained with the AMOVA analyses when populations of lake whitefish were grouped by drainage and according to geographical proximity (Table III). Populations grouped by geographical proximity were consistent with the drainages except that J1 grouped with O3 and M2 was not associated to the other populations of Saint-Maurice river. However, this structure presented a slightly higher  $F_{CT}$  value and also a higher significance. Once again, these latter groups presented a longitudinal organisation, as observed for northern pike (Figure 3).

**Table III**

Partition of the genetic diversity as estimated by hierarchical AMOVA analyses on microsatellites for northern pike (Eslu), lake whitefish (Cocl) and yellow perch (Pefl). Groups were defined either by drainage or by geographical proximity. For yellow perch, the S3 population was not included in the analyses.

Structure	Eslu	Cocl	Pefl	Pefl <sup>1</sup>
<u>Drainage:</u>				
Among groups ( $F_{CT}$ )	-1.76	15.83**	7.61	12.92
Among populations within groups ( $F_{SC}$ )	14.46***	22.24***	29.31***	21.24***
Within populations ( $F_{ST}$ )	87.30***	61.93***	63.08***	65.84***
<u>Geographical proximity:</u>				
Among groups ( $F_{CT}$ )	4.38* <sup>(2)</sup>	18.35*** <sup>(3)</sup>	21.92*** <sup>(4)</sup>	24.00** <sup>(5)</sup>
Among populations within groups ( $F_{SC}$ )	9.78***	19.19***	15.49***	11.50***
Within populations ( $F_{ST}$ )	85.83***	62.47***	62.59***	64.50***

\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$  indicated only for the “among groups” values

<sup>1</sup> Yellow perch populations except M2 and M3

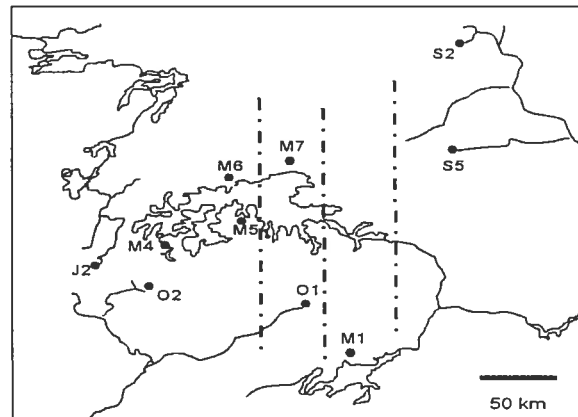
<sup>2</sup> J2, M4, M5, M6, O2 // M7, O1 // M1 // S2, S5

<sup>3</sup> J1, O3 // M4, M5, M6, M7 // M2 // S1, S4

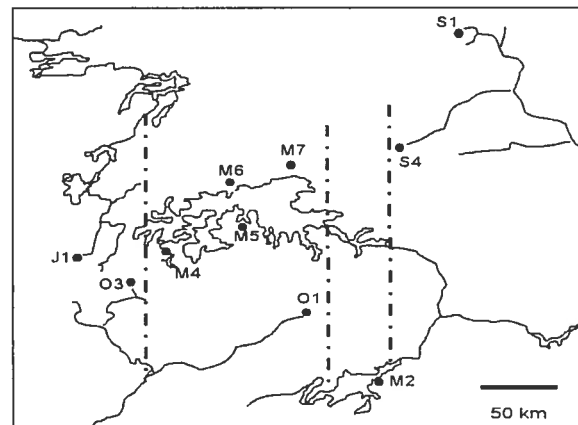
<sup>4</sup> J1 // M4, M5, O2 // M7, M6, O1 // M2, M3 // S4

<sup>5</sup> J1 // M4, M5, O2 // M6, M7, O1 // S4

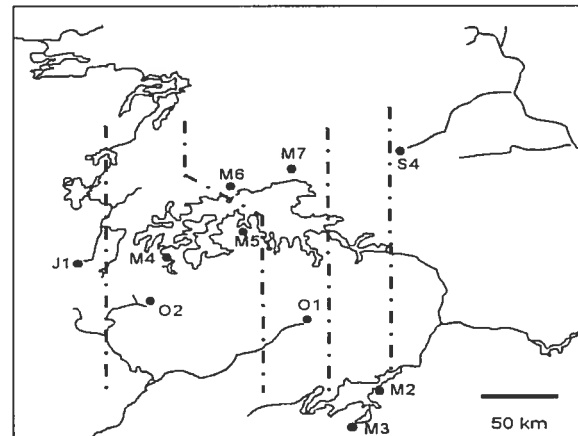
## A) Northern pike



## B) Lake whitefish



## C) Yellow perch

**Figure 3**

Results of the Barrier analysis indicating groups of populations used in the hierarchical analyses of variance for A) northern pike, B) lake whitefish and C) yellow perch. Groups are separated by dotted lines. For yellow perch, the S3 population was not included in the analyses.

The structure by drainage did not provide significant results for yellow perch. When populations were grouped according to geographical proximity, significant  $F_{CT}$  was observed and  $F_{ST}$  estimates revealed that an important part of the variation was found among groups (Table III). When M2 and M3 populations were removed from the analyses, a similar trend was observed: a significant structure was detected only when populations were grouped according to geographical proximity (Table III). As for previous species, populations grouped by geographical proximity were localised into different drainages and revealed a longitudinal organisation (Figure 3).

#### 2.3.6 Genetic differentiation

Significant heterogeneity in allele frequencies was observed between each pairwise population comparison for each loci and each species.  $D_{CE}$  distances for pairwise comparisons involving populations within groups (inferred by geographical proximity) were generally lower than those for populations among groups and this was observed for all species (Table IV). Since these groups were defined on the basis of  $D_{CE}$  distance, this could appear to be a circular argumentation. However, the same results were observed when using the  $(\delta\mu)^2$  distance, a completely distinct measure of divergence, based on the mean of allele size rather than the sum of differences of allele frequencies. In addition, the 95% confidence intervals calculated for  $D_{CE}$  were not overlapping, indicating that the differences observed were significant (Table IV). The intervals calculated for  $(\delta\mu)^2$  were overlapping for lake whitefish and yellow perch. The large variance generally associated to this distance (Goldstein et al. 1995) may partially explain this result. In addition, the reductions in size

observed in both species could also have affected  $(\delta\mu)^2$  distances, thereby increasing its variance (Takezaki and Nei 1996).

**Table IV**

Mean  $D_{CE}$  and  $(\delta\mu)^2$  genetic distances and 95 % confidence intervals (CI) of pairwise comparisons involving populations within or among groups (as inferred by geographical proximity) for northern pike (Eslu), lake whitefish (Cocl) and yellow perch (Pefl). For yellow perch, the S3 population was not included in the analysis. Time of divergence ( $T$ ) was estimated using  $(\delta\mu)^2 = 2\mu T / G$  (Goldstein et al. 1995) where  $\mu$  = mutation rate ( $4 \times 10^{-4}$  mutations/locus/generation) and  $G$  = generation time.

		$D_{CE}$		$(\delta\mu)^2$		$T$	$G$
		Mean	95% CI	Mean	95% CI	Years	Years
Eslu	Within groups	0.404	0.031	1.125	0.541	7 031	5 <sup>1</sup>
	Among groups	0.492	0.017	2.381	0.438	14 884	
Cocl	Within groups	0.398	0.046	3.112	1.900	11 683	3 <sup>2</sup>
	Among groups	0.489	0.028	3.754	1.216	14 077	
Pefl	Within groups	0.396	0.032	2.000	1.151	7 500	3 <sup>1</sup>
	Among groups	0.562	0.040	2.649	0.823	9 932	
	Among mtDNA lineages (A, B vs C)	0.776	0.027	133.912	13.952	502 165	

<sup>1</sup> Scott and Crossman 1974

<sup>2</sup> Bence and Ebener 2002

A striking result was observed when  $D_{CE}$  distances were compared among species. The comparisons within groups were very similar for the three species and ranged from 0.396 to

0.404 while comparisons among groups for each species ranged from 0.489 to 0.562 (Table IV). Similar results were obtained for  $(\delta\mu)^2$  (Table IV). Using a mutation rate generally accepted for microsatellite loci of  $4 \times 10^{-4}$  mutations/locus/generation (Estoup et al. 1995a; Garcia de Leon et al. 1997; O'Connell et al. 1997) and generation times specific to each species (Table IV), time of divergence was roughly estimated according to  $(\delta\mu)^2$  (Goldstein et al. 1995). For all species, the time of divergence of populations within groups ranged from 7 000 to 12 000 years while the time of divergence of populations among groups ranged from 9 000 to 15 000 years (Table IV). This indicated that both levels of organisation are quite recent and are coincident with the glacier retreat. At the opposite, the time of divergence between the two highly divergent groups of yellow perch (characterised by divergent mtDNA lineages) was approximately 500 000 years (Table IV), indicating that their separation largely predate the last glaciation event.

## 2.4 DISCUSSION

Combined results of mtDNA and microsatellites revealed that northern pike, lake whitefish and yellow perch exhibit different evolutionary histories in terms of the origin of founder groups and demographic fluctuations. Both historical factors also proved to have a significant influence on the partition of the genetic diversity of the three species.

### 2.4.1 Post-glacial origin

The unique mitochondrial haplotype found in northern pike suggests that these populations have a common origin. This haplotype was identical to the most common haplotype found in a Great Lakes population (Maes et al. 2003). The consistence of these results therefore indicated that populations of northern pike surveyed in this study shared the same refuge

during the last glaciation, as proposed by Desjardins (1996). The time of divergence, as inferred from  $(\delta\mu)^2$  distances, supported this hypothesis and suggested that the structure found among northern pike populations of Laurentian Shield is recent and was shaped following last glaciation.

The closely related mitochondrial haplotypes found in lake whitefish populations and the recent isolation among populations revealed by genetic distances suggest that these populations shared a recent common origin. Comparisons of sequences (Figure 2) showed that these haplotypes were closely related to the Mississippian clade reported by Lu et al. (2001). Moreover, mtDNA results revealed that lake whitefish populations of Laurentian Shield possess low levels of genetic variability, similar to populations belonging to the Mississippian clade (reviewed in Bernatchez et al. 1999). These results therefore indicated that all lake whitefish populations of Laurentian Shield, like northern pike populations, shared the same refuge during last glaciation, presumably the Mississippian refuge.

For yellow perch, mtDNA and microsatellites analyses revealed that the Laurentian Shield was colonised by two highly divergent lineages. Comparisons of sequences (Figure 2) showed that haplotypes A and B were separated by 1-2 mutations from a Great Lakes haplotype. Genetic distances indicated that the separation of populations characterised by haplotype C from the other populations occurred at least 500 000 years ago. While the lack of information in the literature does not allow for the identification of the geographical origin of these lineages, the present data suggest that yellow perch likely originated from two different glacial refuges, one of which being presumably the Mississippian refuge.



#### 2.4.2 Demographic fluctuations

Demographic analyses suggested that northern pike populations did not experience recent or historical reduction in size. This was also supported by the high levels of genetic diversity observed within populations at the nuclear level. This absence of bottlenecks combined to the large diversity observed within populations highly contrast with results observed in other parts of northern pike range (reviewed in Miller and Senanan 2003). Since the small effective population sizes can not account for the low levels of genetic variation found in northern pike populations, we rather suggest an ancient bottleneck in the glacial refuge well before the colonisation. This would explain the lack of mitochondrial variation observed in northern pike populations. The larger effective size of the nuclear genome and the higher rate of mutation of microsatellite loci would have allowed the conservation, and to some extent the restoration, of a greater diversity at this level.

Lake whitefish and yellow perch populations presented similar levels of low genetic variability and strong genetic partitioning. This indicated that these two species may have followed comparable evolutionary trajectories. Lake whitefish and yellow perch possessed  $F_{ST}$  estimates that were larger than in northern pike. This could be the result of a bias at the level of within-population heterozygosity in northern pike caused by the use of more variable loci. Consequently, the maximal value of  $F_{ST}$  is expected to be lower for this species than for lake whitefish and yellow perch (Hedrick 1999). However, the AMOVA, the IBD and the demographic analyses suggested that there could be another explanation for this result. The populations studied were located in different watershed. In addition, no signal of isolation by distance was detected when considering the waterway model, indicating that populations located in different watershed could be more genetically similar

than populations within a given drainage. This suggests no or very limited contemporary migration among populations. Slatkin (1991) demonstrated that in absence of migration,  $F_{ST}$  is related to the time of divergence ( $T$ ) and the effective population size ( $N_E$ ) by the equation  $F_{ST} = T / T + 2N_E$ . As similar times of divergence within and among groups of populations were observed for all species (without M2 and M3 population of yellow perch) the larger  $F_{ST}$  estimates found in lake whitefish and yellow perch can be the result of smaller effective population sizes than for northern pike. A historical bottleneck could be responsible of this situation, as in northern pike. However, this event would have been more recent and less dramatic than for northern pike, thereby limiting recuperation of the nuclear genetic diversity but allowing conservation of mtDNA variability. This hypothesis is supported by the very low “M” values obtained for lake whitefish and yellow perch. Moreover, it supports the conclusion of Bernatchez and Dodson (1991) and Todd and Hatcher (1993) for lake whitefish and yellow perch respectively, who stated that the low diversity observed in some groups of populations of these species was the result of founder events associated to post-glacial colonisation.

#### 2.4.3 Historic environmental patterns

The northern pike, lake whitefish and yellow perch populations of Laurentian Shield exhibited major differences in their genetic structures (Figure 3). For instance, the westernmost group found in northern pike was composed of populations from three distinct drainages (James Bay, Outaouais and Saint-Maurice). In lake whitefish, Saint-Maurice populations were not included in this group while in yellow perch, the westernmost group included only the population from James Bay. However, despite these species-specific characteristics, the three species demonstrated common patterns in some organisational

aspects of their genetic structures: Firstly, each group of populations were clearly separated along a longitudinal axis (Figure 3). Striking examples were observed in northern pike and yellow perch where populations (M7 and O1) situated 100 km apart on a latitudinal axis in distinct watersheds were more genetically similar than populations (M7 and M5) situated in the same drainage and only 30 km apart on a longitudinal axis. Secondly, the extent of differentiation between adjacent groups along the longitudinal axis for both northern pike and lake whitefish were rather abrupt and stochastic, resulting in a lack of relationship between differentiation and geographic distances. However, a progressive change was observed among yellow perch groups, as indicated by the strong and significant isolation by distance pattern. Thirdly, for lake whitefish and yellow perch, a strong correlation was observed between the presence of bottlenecks and the longitudinal position of populations. Altogether, these results suggested that following the glacier retreat, colonisation by those three species processed independently but similarly.

A hypothetical model of migration is proposed here to tentatively reconcile the results obtained for the three species. The genetic similarity of a given group of populations along a north-south axis is likely the result a northbound migration of the same founder group. Several different founder groups may have progressively colonized this region along a more or less parallel direction, probably driven by the water flow coming from the ice sheet melting. This results in the formation of a genetic structure presenting a longitudinal organisation. These different founder groups presumably have been created just prior colonisation according to the time of divergence among groups inferred from  $(\delta\mu)^2$  distances (excluding the highly divergent group in yellow perch that originate from a distinct refuge). For lake whitefish and yellow perch, the presence of the strongest bottlenecks in the easternmost populations suggest that for these species, the founder groups were formed from west to east, accompanied by a progressive reduction of the effective

population size. The founder groups seems to have been formed in a parapatric fashion in northern pike and lake whitefish, where each founder groups originated from a few individuals randomly selected from a larger gene pool. This would have lead to the stochastic changes observed from group to group on the longitudinal axis and the lack of IBD obtained for these two species. On the other hand, in yellow perch, the progressive transition observed likely result from a stepwise progression of migrants along a longitudinal axis.

#### 2.4.4 Perspectives

Traditionally, biogeographical studies have provided inferences on the refugial origin and post-glacial colonisation routes of organisms using their actual distribution as well as information from pollen and fossils records, climatic gradients and geomorphological limits (Bailey and Smith 1981; Legendre and Legendre 1984; Hocutt and Wiley 1986). More recently, phylogeographical studies have permitted to confirm most of these inferences and to provide new insights on the evolutionary trajectories of species. Moreover, comparative phylogeography has emerged as an appropriate method for assessing the roles of historical and demographic processes in shaping the genetic diversity of species (Bernatchez and Wilson 1998). Here, we used a comparative approach using both mtDNA and microsatellites variation in order to obtain a complete portrait of historical and contemporary processes shaping the genetic structure of species. This method has permitted to reveal that fish species belonging to the same community can reveal strikingly different evolutionary histories. In addition to the analysis of different genomes, this multi-species approach has permitted to shed light on a general pattern of colonisation common to all species and that was probably driven by post-glacial environment. Therefore, the procedure followed may serve as a guideline for further studies on the factors shaping the genetic structure of species and communities.

### **3. CONCLUSION**

### 3.1 COMPARAISON DE MARQUEURS MOLÉCULAIRES

En premier lieu, la comparaison de marqueurs moléculaires situés sur l'ADN mitochondrial et nucléaire a permis de mettre en évidence des différences majeures au niveau de l'histoire évolutive de ces trois espèces. En effet, l'analyse du polymorphisme de ces marqueurs a révélé des différences majeures au niveau de l'origine glaciaire, des tailles efficaces et de la structure génétique des populations de ces poissons.

L'analyse du polymorphisme des marqueurs situés sur l'ADN mitochondrial a indiqué que les populations de brochets et de corégones avaient une origine commune. En effet, ces populations semblent provenir d'un seul refuge glaciaire, vraisemblablement le refuge glaciaire du Mississippi. Les temps de divergence, inférés à l'aide des distances obtenues avec  $\delta\mu^2$ , ont permis de confirmer que la structure génétique retrouvée entre les populations de ces espèces est récente et qu'elle a été façonnée suite à la dernière glaciation. D'un autre côté, les résultats obtenus avec l'ADN mitochondrial ainsi qu'avec l'ADN nucléaire ont révélé que, suite à la dernière glaciation, le Bouclier Laurentien a été colonisé par deux lignées très différentes de perchaudes. Les temps de divergence ont permis de confirmer que la séparation de ces deux lignées est survenue il y a plus de 500 000 ans, c'est-à-dire bien avant le début du dernier épisode de glaciation. Les temps de divergence ont aussi permis de mettre en évidence que la séparation des populations composant la principale lignée de perchaudes est récente et que la structure génétique retrouvée dans ce groupe a été façonnée suite à la dernière glaciation, des résultats similaires à ceux obtenus pour le brochet et le corégone.

En plus de mettre à jour des différences au niveau de leurs origines glaciaires, les marqueurs nucléaires ont permis de révéler que les trois espèces à l'étude présentent aussi

des différences majeures au niveau de leurs tailles efficaces. En effet, les analyses démographiques ont suggéré que les populations de brochets n'ont pas subi de fluctuations démographiques majeures au cours des 10 000 dernières années, contrairement aux populations de corégones et de perchaudes qui semblent avoir souffert d'importantes réductions de la taille de leurs populations.

Chez le brochet, l'absence de fluctuations démographiques est supportée par les hauts niveaux de diversité génétique observés dans les populations au niveau du génome nucléaire. De plus, le faible niveau de partition de la diversité génétique observé entre les populations de brochets semblerait être le résultat de grandes tailles efficaces chez ce poisson. Un goulot d'étranglement historique, subi par les populations de brochets dans le refuge glaciaire, pourrait expliquer le peu de variation génétique retrouvé au niveau mitochondrial ainsi que les hauts niveaux de diversité génétique retrouvés dans les populations de ce poisson au niveau nucléaire. De leur côté, les corégones et les perchaudes présentent des degrés de diversité génétique similaires ainsi qu'une forte partition de cette diversité génétique entre les populations. Ces résultats suggèrent que ces deux espèces ont probablement suivi des trajectoires évolutives comparables. Un goulot d'étranglement pourrait être responsable de la situation observée dans les populations de ces espèces. Cependant, cet événement serait plus récent et moins dramatique que le goulot d'étranglement ayant affecté les populations de brochets, limitant ainsi la récupération de la diversité génétique au niveau nucléaire tout en permettant la conservation d'un certain niveau de diversité au niveau mitochondrial.

Finalement, l'analyse du polymorphisme des marqueurs situés sur l'ADN nucléaire a aussi permis de révéler que les trois espèces à l'étude possèdent des structures génétiques

différentes. En effet, le nombre ainsi que la composition des groupes de populations composant cette structure sont différents pour chacune des espèces. Ce résultat suggère que des facteurs propres à chaque espèce ont contribué au façonnement de la structure génétique des populations de brochets, de corégones et de perchaudes.

### 3.2 COMPARAISON D'ESPÈCES

La comparaison de marqueurs moléculaires situés sur l'ADN mitochondrial et nucléaire a donc permis de mettre en évidence que les brochets, les corégones et les perchaudes vivant en sympatrie dans des lacs du Bouclier Laurentien possèdent des différences majeures au niveau de leur histoire évolutive. Cependant, la comparaison de ces différentes espèces de poissons a permis de révéler qu'en dépit de ces différences évolutives spécifiques à chaque espèce, les brochets, les corégones et les perchaudes présentent une organisation commune de leur structure génétique.

En effet, les groupes de populations composant la structure génétique de ces espèces sont séparés le long d'un axe longitudinal. Ainsi, des populations de brochets et de perchaudes provenant de drainages différents et situées à plus de 100 km sur un axe latitudinal sont plus semblables génétiquement que des populations situées dans un même drainage et à moins de 30 km sur un axe longitudinal. Ceci suggère que la similarité génétique de ces populations résulte de la migration d'un même groupe fondateur le long d'un axe latitudinal. La présence de différents groupes de populations suggère que plusieurs groupes fondateurs ont colonisé le territoire de façon plus ou moins parallèle, probablement dirigé par les flots d'eau provenant de la fonte du glacier. De plus, le degré de différenciation entre les différents groupes augmente progressivement chez la perchaude, suggérant ainsi que pour cette espèce la migration s'est effectuée pas-à-pas le long de l'axe longitudinal.



Finalement, pour le corégone et la perchaude, une importante corrélation est observée entre la présence et l'intensité des goulots d'étranglement dans les populations et leur position longitudinale. Ce résultat suggère que pour ces deux espèces, les groupes fondateurs ont été formés à partir de l'ouest, et que la taille efficace des populations s'est progressivement réduite lors de la progression vers l'est. L'ensemble de ces résultats suggère donc que suite au retrait du glacier Laurentien, la colonisation du territoire par ces trois espèces s'est déroulée de façon indépendante mais similaire, résultant ainsi en l'obtention d'un patron génétique commun.

L'approche utilisée lors de cette étude a permis de révéler que des espèces de poissons appartenant à la même communauté peuvent posséder des histoires évolutives très différentes. Cependant, cette approche a aussi permis de mettre en lumière l'existence d'une organisation génétique commune à toutes les espèces, probablement façonnée par l'action de fortes pressions environnementales historiques. Cette approche de phylogéographie comparée, utilisant l'information provenant de l'ADN mitochondrial et nucléaire, s'est donc avérée être la méthode appropriée pour l'obtention d'un portrait détaillé des processus ayant façonné la structure génétique de ces espèces.

### 3.3 PERSPECTIVES

La phylogéographie comparée est une approche généralement utilisée dans le but d'inférer les trajectoires évolutives de complexes d'espèces ou de groupes d'espèces. Cependant, cette approche peut aussi être utilisée dans un but de conservation et éventuellement avoir un impact majeur dans ce domaine. De façon générale, les études de conservation concentrent leur expertise sur l'étude et la protection d'une seule espèce (Eizirik et al. 2001; Koskinen et al. 2002; Balakrishnan et al. 2003). Cependant, l'étude de complexes

d'espèces ou de groupes d'espèces, à l'aide d'une approche de phylogéographie comparée, peut permettre de mieux faire la distinction entre la vulnérabilité des espèces ou la vulnérabilité de leur habitat (Lovette et al. 1999; Branch et al. 2003; Contreras-Diaz et al. 2003). Par conséquent, en plus de pouvoir être utilisée pour la définition d'ESU (Evolutionary Significant Units – Ryder 1986), la phylogéographie comparée peut aussi servir à définir des assemblages de biodiversité revêtant une grande importance pour la conservation (Moritz et Faith 1998), même si ces assemblages n'ont pas été reconnus à l'origine par les méthodes de biogéographie traditionnelle. La phylogéographie comparée devrait donc être utilisée dans un nombre grandissant d'études, de façon à faciliter l'obtention d'un portrait détaillé de l'histoire évolutive des espèces et des communautés, ce qui pourrait éventuellement permettre une meilleure conservation de la biodiversité.

## RÉFÉRENCES

Allison, A. C. 1954a. The distribution of the sickle-cell trait in East Africa and elsewhere, and its apparent relationship to the incidence of subtertian malaria. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 48: 312-318.

Allison, A. C. 1954b. Protection afforded by sickle-cell trait against subtertian malarial infection. *Brit. Med. J.* 1: 290-294.

Angers, B., et L. Bernatchez. 1998. Combined use of SMM and Non-SMM methods to infer fine structure and evolutionary history of closely related brook charr (*Salvelinus fontinalis*, Salmonidae) populations from microsatellites. *Mol. Biol. Evol.* 15: 143-159.

Angers, B., L. Bernatchez, A. Angers, et L. Desgroseillers. 1995. Specific microsatellite loci for brook charr (*Salvelinus fontinalis* Mitchill) reveals strong population subdivision on microgeographic scale. *J. Fish Biol.* 47: 177-185.

Angers, B., A. Estoup, et P. Jarne. 2000. Microsatellite size homoplasy, SSCP, and populations structure: a case study in the freshwater snail *Bulinus truncatus*. *Mol. Biol. Evol.* 17: 1926-1932.

Angers, B., N. Charbonnel, N. Galtier, et P. Jarne. 2003. The influence of demography, population structure and selection on molecular diversity in the selfing freshwater snail *Biomphalaria pfeifferi*. *Genet. Res. Camb.* 81: 193-204.

Akey, J. M., M. A. Eberle, M. J. Rieder, C. S. Carlson, M. D. Shriver, D. A. Nickerson et L. Kruglyak. 2004. Population history and natural selection shape patterns of genetic variation in 132 genes. *PloS Biol.* 2: e286.

Arbogast, B. S. 1999. Mitochondrial DNA phylogeography of the New World flying squirrels (*Glaucomys*): implications for Pleistocene biogeography. *J. Mammal.* 80:142-155.

Avise, J. C. 1992. Molecular population structure and the biogeographic history of a regional fauna: A case history with lessons for conservation biology. *Oikos* 63: 62-76.

Avise, J. C. 1994. *Molecular markers, natural history and evolution*. Chapman et al., New York.

Avise, J. C. 2000. *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard Univ. Press, Cambridge, MA.

Avise, J. C., J. Arnold, R. M. Ball, E. Bermingham, T. Lamb, J. E. Neigel, C. A. Reeb, et N. C. Saunders. 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial bridge between population genetics and systematics. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 18: 489-522.

Bailey, R. M., et G. R. Smith. 1981. Origin and geography of the fish fauna of the Laurentian Great Lakes basin. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 38: 1539-1561.

Baker, A. J., et A. Moeed. 1987. Rapid genetic differentiation and founder effect in colonizing populations of common mynas (*Acridotheres tristis*). *Evolution* 41: 525-538.

Balakrishnan, C. N., S. L. Monfort, A. Gaur, L. Singh, et M. D. Sorenson. 2003. Phylogeography and conservation of Eld's deer (*Cervus eldi*). *Mol. Ecol.* 12: 1-10.

Bassam, B. J., G. Caetano-Anolles, et P. M. Gresshoff. 1991. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Anal. Biochem.* 196: 80.

Bence, J. R., et M. P. Ebener. 2002. *Summary Status of Lake Trout and Lake Whitefish Populations in the 1836 Treaty-Ceded Waters of Lakes Superior, Huron and Michigan in*

2000, with recommended yield and effort levels for 2001. Technical Fisheries Committee, 1836 Treaty-Ceded Waters of Lakes Superior, Huron and Michigan.

Bennett, K. D. 1997. *Evolution and Ecology: The pace of life*. Cambridge Univ. Press, Cambridge.

Bermingham, E., et J. C. Avise. 1986. Molecular zoogeography of freshwater fishes in the southeastern United States. *Genetics* 113: 939-965.

Bermingham, E., et C. Moritz. 1998. Comparative phylogeography: concepts and applications. *Mol. Ecol.* 7: 367-369.

Bernatchez, L., et J. J. Dodson. 1991. Phylogeographic structure in mitochondrial DNA of the lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*) and its relation to Pleistocene glaciations. *Evolution* 45: 1016-1035.

Bernatchez, L., et C. C. Wilson. 1998. Comparative phylogeography of Nearctic and Palearctic fishes. *Mol. Ecol.* 7: 431-452.

Bernatchez, L., A. Chouinard, et G. Lu. 1999. Integrating molecular genetics and ecology in studies of adaptive radiation: whitefish, *Coregonus* sp., as a case study. *Biol. J. Linn. Soc.* 68: 173-194.

Billington, N. 1993. Genetic variation in Lac Erie yellow perch (*Perca flavescens*) demonstrated by mitochondrial DNA analysis. *J. Fish. Biol.* 43: 941-943.

Billington, N. 1996. Geographical distribution of mitochondrial DNA (mtDNA) variation in walleye, sauger, and yellow perch. *Ann. Zool. Fenn.* 33: 699-706.

Billington, N., et P. D. N. Hebert. 1988. Mitochondrial DNA variation in Great Lakes walleye (*Stizostedion vitreum*) populations. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 45: 643-654.

Billington, N., et P. D. N. Hebert. 1991. Mitochondrial DNA diversity in fishes and its implications for introductions. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 48 (suppl. 1): 80-94.

Blondel, J. 1995. *Biogéographie: Approche écologique et évolutive*. Masson, Paris.

Borlase, S. C., D. A. Loebel, R. Frankham, R. K. Nurthen, D. A. Briscoe, et G. E. Daggard. 1993. Modeling problems in conservation genetics using captive *Drosophila* populations : consequences of equalization of family sizes. Conserv. Biol. 7:122-131.

Branch, L. C., A.-M. Clark, P. E. Moler, et B. W. Bowen. 2003. Fragmented landscapes, habitat specificity, and conservation genetics of three lizards in Florida scrubs. Conserv. Genet. 4: 199-212.

Briggs, J. C. 1986. Introduction to the Zoogeography of North American Fishes. P.p. 1-16 in C. H. Hocutt and E. O. Wiley, eds. *The zoogeography of North American freshwater fishes*. John Wiley and Sons inc, New-York.

Briton, J., R. K. Nurthen, D. A. Briscoe, et R. Frankham. 1994. Modelling problems in conservation genetics using captive *Drosophila* populations: Consequences of harems. Biol. Conserv. 69: 267-275.

Brown, J. H., et M. V. Lomolino. 1998. *Biogeography* 2<sup>nd</sup> edition. Sinauer Associates, Sunderland, MA.

- Brunner, P. C., R. D. Marlis, A. Osinov, C. C. Wilson, et L. Bernatchez. 2001. Holarctic phylogeography of arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.) inferred from mitochondrial DNA sequences. *Evolution* 55: 573-586.
- Buri, P. 1956. Gene frequency in small populations of mutant *Drosophila*. *Evolution* 10: 367-402.
- Byun, S. A., B. F. Koop, et T. E. Reichmen. 1997. North American black bear mtDNA phylogeography: implications for morphology and the Haida Gwaii glacial refugium controversy. *Evolution* 51: 1647-1653.
- Caballero, A. 1994. Developments in the prediction of effective population size. *Heredity* 73: 657-679.
- Cabe, P. R. 1998. The effects of founding bottlenecks on genetic variation in the European starling (*Sturnus vulgaris*) in North America. *Heredity* 80: 519-525.
- Cabe, P. R., et D. N. Alstad. 1994. Interpreting population differentiation in terms of drift and selection. *Evol. Ecol.* 8: 489-492.
- Casgrain, P., et P. Legendre. 2001. The R Package for multivariate and spatial analysis, version 4.0. Department of Biological Sciences, Univ. de Montréal, Canada.
- Castric, V., et L. Bernatchez. 2003. The rise and fall of isolation by distance in the anadromous brook charr (*Salvelinus fontinalis* Mitchill). *Genetics* 163: 983-996.
- Cavalli-Sforza, L., et A. W. F. Edwards. 1967. Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. *Am. J. Hum. Genet.* 19: 233-257.



- Cavener, D. R., et M. T. Clegg. 1981. Multigenic response to ethanol in *Drosophila melanogaster*. *Evolution* 35: 1-10.
- Chao, L. 1990. Fitness of RNA virus decreased by Muller's ratchet. *Nature* 348: 454-455.
- Colbourne, J. K., T. J. Crease, L. J. Weider, P. D. N. Hebert, F. Dufresne, et A. Hobaek. 1998. Phylogenetics and evolution of a circumarctic species complex (Cladocera : *Daphnia pulex*). *Biol. J. Linn. Soc.* 65 : 347-365.
- Contreras-Diaz, H. G., O. Moya, P. Oromi, et C. Juan. 2003. Phylogeography of the endangered darkling beetle species of *Pimelia* endemic to Gran Canaria (Canary Islands). *Mol. Ecol.* 12: 2131-2143.
- Cooper, G. M. 1999. *La cellule: une approche moléculaire*. De Boeck Université, Paris et Bruxelles.
- Cornuet, J.-M., et G. Luikart. 1996. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics* 144 : 2001-2014.
- Croizat, L. 1952. *Manual of Phytogeography*. Junk, The Hague.
- Croizat, L. 1958. *Panbiogeography*. Vol. 1, 2a, 2b, published by the author, Caracas, Venezuela.
- Cronin, M. A., S. C. Amstrup, et G. W. Garner. 1991. Interspecific and intraspecific mitochondrial DNA variation in North American bears (*Ursus*). *Can. J. Zool.* 69: 2985-2992.

Crossman, E. J., et D. E. McAllister. 1986. Zoogeography of freshwater fishes of the Hudson Bay drainage, Ungava Bay and the Arctic Archipelago. P.p. 53-104 in C. H. Hocutt and E. O. Wiley, eds. *The zoogeography of North American freshwater fishes*. John Wiley and Sons inc, New-York.

Crow, J. F., et C. Denniston. 1988. Inbreeding and variance effective population numbers. *Evolution* 42: 482-495.

Danzmann, R. G., R. P. I. Morgan, M. W. Jones, L. Bernatchez, P. E. Ihssen. 1998. A major sextet of mitochondrial DNA phylogenetic assemblages extant in eastern North American brook charr (*Salvelinus fontinalis*): distribution and post-glacial dispersal patterns. *Can. J. Zool.* 76: 1300-1318.

Darlington, P. J. 1957. *Zoogeography; the Geographical Distribution of Animals*. Wiley, New York et Londres.

Demesure, B., B. Comps, et R. J. Petit. 1996. Chloroplast DNA phylogeography of the common beech (*Fagus sylvatica* L.) in Europe. *Evolution* 50: 2515-2520.

Desjardins, M. C. 1996. Molecular genetic variation in muskellunge (*Esox masquinongy*) and northern pike (*Esox lucius*) from watersheds in the upper Midwest. Thèse de maîtrise. Univ. of Illinois, Urbana-Champaign.

Di Rienzo, A., A. C. Peterson, J. C. Garza, A. M. Valdes, M. Slatkin, et N. B. Freimer. 1994. Mutational processes of simple-sequence repeat loci in human populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 91: 3166-3170.

Dobzhansky, T., et O. Pavlovsky. 1957. An experimental study of interaction between genetic drift and natural selection. *Evolution* 11: 311-319.

- Dumolin-Lapègue, S., B. Demesure, S. Fineschi, V. Le Corre, et R. J. Petit. 1997. Phylogeographic structure of white oaks throughout the European continent. *Genetics* 146: 1475-1487.
- Eizirik, E., J.-H. Kim, M. Menotti-Raymond, P. G. Crawshaw Jr., S. J. O'Brien, et W. E. Johnson. Phylogeography, population history and conservation genetics of jaguars (*Panthera onca*, Mammalia, Felidae). *Mol. Ecol.* 10: 65-79.
- Estoup, A., et B. Angers. 1998. Microsatellites and minisatellites for molecular ecology: theoretical and empirical considerations. Pp. 55-85 in G. R. Carvalho, ed. *Advances in Molecular Ecology*. NATO Science Series A: Life Sciences vol. 306, IOS Press, Amsterdam.
- Estoup, A., L. Garnery, M. Solignac, et J.-M. Cornuet. 1995. Microsatellite variation in honey bee (*Apis mellifera* L.) populations: hierarchical genetic structure and test of the infinite allele and stepwise mutation models. *Genetics* 140: 679-695.
- Estoup, A., C. Tailliez, J.-M. Cornuet, et M. Solignac. 1995. Size homoplasy and mutational processes of interrupted microsatellites in two bee species, *Apis mellifera* and *Bombus terrestris* (Apidae). *Mol. Biol. Evol.* 12: 1074-1084.
- Estoup, A., F. Rousset, Y. Michalakis, J.-M. Cornuet, M. Adriamanga, et R. Guyomard. 1998. Comparative analysis of microsatellite and allozyme markers: a case study investigating microgeographic differentiation in brown trout (*Salmo trutta*). *Mol. Ecol.* 7: 339-353.

Excoffier, L., P. E. Smouse, et J. M. Quattro. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial restriction data. *Genetics* 131: 479-491.

Flint, R.F. 1957. *Glacial and Pleistocene geology*. John Wiley et Sons. New York. NY.

Franck, P., L. Garnery, A. Loiseau, B. P. Oldroyd, H. R. Hepburn, M. Solignac, et J.-M. Cornuet. 2001. Genetic diversity of the honeybee in Africa: microsatellite and mitochondrial data. *Heredity* 86: 420-430.

Frankham, R. 1995. Effective population size / adult population size ratios in wildlife: a review. *Genet. Res. Camb.* 66: 95-107.

Frankham, R. 1997. Do island populations have less genetic variation than mainland populations? *Heredity* 78: 311-327.

Fulton, R. J., et V. K. Prest. 1987. The Laurentide ice sheet and its significance. *Geogr. Phys. Quatern.* 41: 181-186.

Garcia de Leon, F. J., L. Chikhi, et F. Bonhomme. 1997. Microsatellite polymorphism and population subdivision in natural populations of European sea bass *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758). *Mol. Ecol.* 6: 51-62.

Garza, J. C., et E. G. Williamson. 2001. Detection of reduction in population size using data from microsatellite loci. *Mol. Ecol.* 10: 305-318.

Gilbert, T. L., J. R. Brown, P. J. O'Hara, N. E. Buroker, A. T. Beckenbach, et M. J. Smith. 1988. Sequence of tRNA (Thr) and tRNA (Pro) from white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) mitochondria. *Nuc. Ac. Res. J.* 16: 11825.

Glinka, S., L. Ometto, S. Mousset, W. Stephan, et D. De Lorenzo. 2003. Demography and natural selection have shaped genetic variation in *Drosophila melanogaster*: a multi-locus approach. *Genetics* 165: 1269-1278.

Goldstein, D., A. B. Ruiz Linares, L. Cavalli-Sforza L, et M. W. Feldman. 1995a. Genetic absolute dating based on microsatellites and the origin of modern humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92: 6723-6727.

Gómez, A., G. R. Carvalho, et D. H. Lunt. 2000. Phylogeography and regional endemism of a passively dispersing zooplankter: mtDNA variation of rotifer resting egg banks. *Proc. R. Soc. Lond. ser B.* 267: 2189-2197.

Good, D. A. 1989. Hybridization and cryptic species in *Dicamptodon* (Caudata : Dicamptodontidae). *Evolution* 43 : 728-744.

Green, D. M., T. F. Sharbel, J. Kearsley et H. Kaiser. 1996. Postglacial range fluctuation, genetic subdivision and speciation in the western North American spotted frog complex, *Rana pretiosa*. *Evolution* 50: 374-390.

Grivet, D., et R. J. Petit. 2003. Chloroplast DNA phylogeography of the hornbeam in Europe: Evidence for a bottleneck at the outset of postglacial colonization. *Conserv. Genet.* 4 : 47-56.

Guo, S.W., et E. A. Thompson. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportions for multiple alleles. *Biometrics* 48: 361-372.

Haldane, J. B. S. 1937. The effect of variation on fitness. *Am. Nat.* 71: 337-349.

- Hansen, M. M., R. A. Hynes, V. Loeschcke, et G. Rasmussen. 1995. Assessment of the stocked or wild origin of anadromous brown trout (*Salmo trutta* L.) in a Danish river system, using mitochondrial DNA RFLP analysis. *Mol. Ecol.* 4: 189-198.
- Hansen, M. M., J. B. Taggart, et D. Meldrup. 1999. Development of new VNTR markers for pike and assessment of variability at di- and tetranucleotide repeat microsatellite loci. *J. Fish Biol.* 55: 183-188.
- Harding, R. M., E. Healy, A. J. Ray, N. S. Ellis, N. Flanagan, C. Todd, C. Dixon, A. Sajantila, I. J. Jackson, M. A. Birch-Machin, et J. L. Rees. 2000. Evidence for variable selective pressures at MC1R. *Am. J. Hum. Genet.* 66: 1351-1361.
- Hardy, O. J., et X. Vekemans. 2002. SPAGeDi : a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. *Mol. Ecol. Notes* 2: 618-620.
- Hardy, O. J., N. Charbonnel, H. Fréville, et M. Heuertz. 2003. Microsatellite allele sizes : a simple test to assess their significance on genetic differentiation. *Genetics* 163 : 1467-1482.
- Hartl, D. L., et A. G. Clark. 1997. *Principles of Population Genetics*. 3<sup>rd</sup> edition. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA.
- Healy, J. A., et M. F. Mulcahy. 1980. A biochemical genetic analysis of populations of northern pike, *Esox lucius* L., from Europe and North America. *J. Fish. Biol.* 17: 317-324.
- Hedrick, P. W. 1999. Perspective: Highly variable loci and their interpretation in evolution and conservation. *Evolution* 53: 313-318.
- Henning, W. 1966. *Phylogenetic Systematics*. University of Illinois, Urbana.

- Hewitt, G.M. 1996. Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biol. J. Linn. Soc.* 58: 247-276.
- Hey, J. 1997. Mitochondrial and nuclear genes present conflicting portraits of human origins. *Mol. Biol. Evol.* 14: 166-172.
- Hocutt, C. H., et E. O. Wiley, eds. 1986. *The zoogeography of North American freshwater fishes*. John Wiley and Sons, New York.
- Hodgson, J. R., D. E. Schindler, et X. He. 1998. Homing tendency of three piscivorous fishes in a north temperate lake. *Trans. Am. Fish. Soc.* 12: 1078-1081.
- Jarne, P., et J. L. Lagoda. 1996. Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends Ecol. Evol.* 11: 424-429.
- Jorde, L. B., M. Bamshad, et A. R. Rogers. 1998. Using mitochondrial and nuclear DNA markers to reconstruct human evolution. *BioEssays* 20: 126-136.
- Kimura, M. 1968. Evolutionary rate at the molecular level. *Nature* 217: 624-626.
- Kimura, M., et J. F. Crow. 1963. The measurement of effective population number. *Evolution* 17: 279-288.
- King, R. B., et R. Lawson. 1995. Color-pattern variation in Lake Erie water snakes: The role of gene flow. *Evolution* 49: 885-896.
- Koehn, R.K., R. I. E. Newell, et F. Immerman. 1980. Maintenance of an amino peptidase allele frequency cline by natural selection. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 77: 5385-5389.

- Koskinen, M. T., J. Nilsson, A. Veselov, A. G. Potutkin, E. Ranta, et C. R. Primmer. 2002. Microsatellite data resolve phylogeographic patterns in European grayling, *Thymallus thymallus*, Salmonidae. *Heredity* 88: 391-401.
- Lacasse, S., et P. Magnan. 1993. Distribution post-glaciaire des poissons dans le bassin hydrographique du fleuve St-Laurent : impact des interventions humaines. Université du Québec à Trois-Rivières, pour le ministère du Loisir, de la Chasse et de la Pêche du Québec. Rapport technique.
- Langella, O. 1999. Populations, version 1.2.28 (12/5/2002). CNRS UPR9034.
- Leary, R., et H. E. Brooke. 1982. Genetic stock analysis of yellow perch from Green Bay and Lake Michigan. *Trans. Am. Fish. Soc.* 111: 52-57.
- Leclerc, D., T. Wirth, et L. Bernatchez. 2000. Isolation and characterization of microsatellite loci in the yellow perch (*Perca flavescens*), and cross-species amplification within the family Percidae. *Mol. Ecol.* 9: 995-997.
- Legendre, P., et V. Legendre. 1984. Postglacial dispersal of freshwater fishes in the Québec Peninsula. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 41: 1781-1802.
- Levinson, G., et G. A. Gutman. 1987. Slipped-strand mispairing: a major mechanism for DNA sequence evolution. *Mol. Biol. Evol.* 4: 203-221.
- Lovette, I. J., E. Bermingham, et R. E. Ricklefs. 1999. Mitochondrial DNA phylogeography and the conservation of endangered lesser Antillean *Icterus* Orioles. *Conserv. Biol.* 13: 1088-1096.



- Lu, G., D. J. Basley, et L. Bernatchez. 2001. Contrasting patterns of mitochondrial DNA and microsatellite introgressive hybridization between lineages of lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*); relevance for speciation. *Mol. Ecol.* 10: 965-985.
- Maes, G. E., J. K. J. Van Houdt, D. De Charleroy, et F. A. M. Volckaert. 2003. Indications for a recent Holarctic expansion of pike based on a preliminary study of mtDNA variation. *J. Fish Biol.* 63: 254-259.
- Manni, F., E. Guérard, et E. Heyer. 2004. Geographic patterns of (genetic, morphologic, linguistic) variation: how barriers can be detected by “Monmonier’s algorithm”. *Hum. Biol.* 76: 173-190.
- Margenau, T. L., P. W. Rasmussen, et J. M. Kampa. 1998. Factors affecting growth of northern pike in small northern Wisconsin lakes. *N. Am. J. Fish. Manag.* 18: 625-639.
- Marshall, D. R., et R. W. Allard. 1970. Maintenance of isozyme polymorphisms in natural populations of *Avena barbata*. *Genetics* 66: 393-399.
- Martinez, D. E., et J. Levinton. 1996. Adaptation to heavy metals in the aquatic oligochaete *Limnodrilus hoffmeisteri*: Evidence for control by one gene. *Evolution* 50: 1339-1343.
- Mayr, E. 1963. *Animal Species and Evolution*. Harvard Univ. Press, Cambridge, MA.
- McAllister, D. E., S. P. Platania, F. W. Schueler, M. E. Baldwin, et D. S. Lee. 1986. Ichthyofaunal patterns on a geographic grid. P.p. 17-51 in C. H. Hocutt and E. O. Wiley, eds. *The zoogeography of North American freshwater fishes*. John Wiley and Sons inc, New-York.

- McCommas, S. A., et E. H. Bryant. 1990. Loss of electrophoretic variation in serially bottlenecked populations. *Heredity* 64: 315-321.
- McKechnie, S. W., et B. W. Geer. 1993. Micro-evolution in a wine cellar population: an historical perspective. *Genetica* 90: 201-215.
- Miller, L. M., et A. R. Kapuscinski. 1996. Microsatellite DNA markers reveal new level of genetic variation in northern pike. *Trans. Am. Fish. Soc.* 125: 971-977.
- Miller, L. M., et A. R. Kapuscinski. 1997. Historical analysis of genetic variation reveals low effective population size in a northern pike (*Esox lucius*) population. *Genetics* 147: 1249-1258.
- Miller, L. M., et W. Senanan. 2003. A review of northern pike population genetics research and its implications for management. *N. Am. J. Fish. Manag.* 23: 297-306.
- Monmonier, M. 1973. Maximum-difference barriers: an alternative numerical regionalization method. *Geogr. Anal.* 3: 245-61.
- Moritz C. 1994. Applications of mitochondrial DNA analysis in conservation: a critical review. *Mol. Ecol.* 3: 401-411.
- Moritz, C., et D. P. Faith. 1998. Comparative phylogeography and the identification of genetically divergent areas for conservation. *Mol. Ecol.* 7: 419-429.
- Morrone, J. J., et J. V. Crisci. 1995. Historical biogeography: Introduction to Methods. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 26:373-401.
- Muller, H. J. 1950. Our load of mutations. *Amer. J. Hum. Genet.* 2: 111-176.

Myers, A. A., et P. S. Giller. 1988. Process, pattern and scale in biogeography. P.p 3-10 *In Analytical biogeography: an integrated approach to the study of animal and plant distributions*. A.A. Myers et P. S. Giller eds. Chapman et al, London.

Nei, M. 1987. *Molecular evolutionary genetics*. Columbia Univ. Press, New York.

Nei, M., et F. Tajima. 1981. DNA polymorphism detectable by restriction endonucleases. *Genetics* 105: 207-217.

O'Connell, M., R. G. Danzmann, J.-M. Cornuet, et M. M. Ferguson. 1997. Differentiation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) populations in Lake Ontario and the evaluation of the stepwise mutation and infinite allele mutation models using microsatellite variability. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 54: 1391-1399.

Orita, M., H. Iwahana, H. Kanazawa, et T. Sckiya. 1989. Rapid and sensitive detection of point mutations and DNA polymorphisms using polymerase chain reaction. *Genomics* 5: 874-879.

Packer, C., D. A. Gilbert, A. E. Pusey, et S. J. O'Brien. 1991. A molecular genetic analysis of kinship and cooperation in African lions. *Nature* 351: 562-565.

Patton, J. C., B. J. Gallaway, R. G. Fechhelm, et M. A. Cronin. 1997. Genetic variation of microsatellite and mitochondrial DNA markers in broad whitefish (*Coregonus nasus*) in the Colville and Sagavanirktok Rivers in northern Alaska. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 54: 1548-1556.

- Petit, R. J., S. Brewer, S. Bordacs, K. Burg, R. Cheddadi, et al. 2002. Identification of refugia and post-glacial colonisation routes of European white oaks based on chloroplast DNA and fossil pollen evidence. *For. Ecol. Manag.* 156: 49-74.
- Pielou, E. C. 1991. *After the Ice Age: the Return of Life to Glaciated North America*. Univ. of Chicago Press, Chicago.
- Piry, S., G. Luikart, et J.-M. Cornuet. 1999. Bottleneck: A computer program for detecting recent reductions in effective population size from allele frequency data. *J. Hered.* 90: 502-503.
- Raymond, M., et F. Rousset. 1995. GENEPOP (version 3.3): Population genetics software for exact test and ecumenism. *J. Hered.* 86: 248-249.
- Rice, W. R. 1989. Analysing tables of statistical tests. *Evolution* 43: 223-225.
- Rogers, S. M., M.-H. Marchand, et L. Bernatchez. 2004. Isolation, characterization and cross-salmonid amplification of 31 microsatellite loci in the lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*, Mitchill). *Mol. Ecol. Notes* 4: 89-92.
- Rousset, F. 1996. Equilibrium values of measures of population subdivision for stepwise mutation processes. *Genetics* 142: 1357-1362.
- Rousset, F. 1997. Genetic differentiation and estimation of gene flow from  $F$ -statistics under isolation by distance. *Genetics* 145: 1219-1228.
- Ryder, O. A. 1986. Species conservation and systematics: the dilemma of subspecies. *Trends Ecol. Evol.* 1: 9-10.

Sanbrook, J., E. F. Fritsch, et T. Maniatis. 1989. *Molecular cloning: a laboratory manual*. 2<sup>nd</sup> ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.

Schneider, C. J., M. Cunningham, et C. Moritz. 1998. Comparative phylogeography of vertebrates endemic to the rainforests of north-east Queensland. *Mol. Ecol.* 7 : 487-498.

Schneider, S., D. Roessli, et L. Excoffier. 2000. Arlequin, version 2.0: a software for population genetics data analysis. Genetics and Biometry Laboratory, Univ. of Geneva, Switzerland.

Scott, W. B., et E. J. Crossman. 1974. *Freshwater fishes of Canada*. Bull. Fish. Res. Board Can. No. 184.

Seeb, J. E., L. W. Seeb, D. W. Oates, et F. M. Utter. 1987. Genetic variation and postglacial dispersal of populations of northern pike (*Esox lucius*) in North America. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 44: 556-561.

Senanan, W., et A. R. Kapuscinski. 2000. Genetic relationships among populations of northern pike (*Esox lucius*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 57: 391-404.

Sheffield, V. C., J. S. Beck, A. E. Kwik, D. W. Sanstrom, et E. M. Stone. 1993. The sensitivity of Single-Strand Conformation Polymorphism analysis for the detection of single base substitutions. *Genomics* 16: 325-332.

Slatkin, M. 1991. Inbreeding coefficients and coalescence times. *Genet. Res. Camb.* 58: 167-175.

Storz, J. F., U. Ramakrishnan, et S. C. Alberts. 2002. Genetic effective size of a wild primate population: influence of current and historical demography. *Evolution* 56: 817-829.

Strittholt, J. R., S. I. Guttman, et T. E. Wissing. 1988. Low levels of genetic variability of yellow perch (*Perca flavescens*) in Lake Erie and selected impoundments. Pp. 246-257 in J. F. Downhower, ed. *The biogeography of the Island Region of western Lake Erie*. Ohio State Univ. Press, Columbus, Ohio.

Sullivan, J., E. Arellano, et D. S. Rogers. 2000. Comparative phylogeography of Mesoamerican highland rodents: concerted versus independent response to past climatic fluctuations. *Am. Nat.* 155: 755-768.

Taberlet, P., et J. Bouvet. 1994. Mitochondrial DNA polymorphism, phylogeography and conservation genetics of the brown bear *Ursus arctos* in Europe. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 255: 195-200.

Taberlet, P., L. Fumagalli, A.-G. Wust-Saucy, et J.-F. Cossons. 1998. Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe. *Mol. Ecol.* 7: 453-464.

Takezaki, N., et M. Nei. 1996. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. *Genetics* 144: 389-390.

Todd, T. N., et C. O. Hatcher. 1993. Genetic variability and glacial origins of yellow perch (*Perca flavescens*) in North America. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 50: 1828-1834.

Turgeon, J., et L. Bernatchez. 2001. Clinal variation at microsatellite loci reveals historical secondary intergradation between glacial races of *Coregonus artedii* (Teleostei: Coregoninae). *Evolution* 55 : 2274-2286.

Turner, T. F., J. C. Trexler, D. N. Kuhn, et H. W. Robinson. 1996. Life-history variation and comparative phylogeography of darters (Pisces: Percidae) from the North American Central Highlands. *Evolution* 50: 2023-2036.

Vucetich, J. A., et T. A. Waite. 2003. Spatial patterns of demography and genetic processes across the species' range: null hypotheses for landscape conservation genetics. *Conserv. Genet.* 4: 639-645.

Wallace, A. R. 1876. *The Geographical Distribution of Animals*. 2 vol. MacMillan, London.

Wallace, A. R. 1880. *Island Life, or the Phenomena and Causes of Insular Faunas and Floras*. MacMillan, London.

Wares, J. P., et C. W. Cunningham. 2001. Phylogeography and historical ecology of the north atlantic intertidal. *Evolution* 55: 2455-2469.

Weir, B. S., et C. C. Cockerham. 1984. Estimating  $F$ -statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358-1370.

Wilson, C. C., et P. D. N. Hebert. 1998. Phylogeography and postglacial dispersal of lake trout (*Salvelinus namaycush*) in North America. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 55: 1010-1024.

Wilson, C. C., P. D. N. Hebert, J. D. Reist, et J. B. Dempson. 1996. Phylogeography and postglacial dispersal of arctic charr *Salvelinus alpinus* in North America. *Mol. Ecol.* 5: 187-197.

Wilson, E. O. 1997. Introduction. P.p. 1-3 in Reaka-Kudla, M. L., D. E. Wilson, et E. O. Wilson, eds. *Biodiversity II: Understanding and protecting our biological resources*. Joseph Henry Press, Washington.

Wilson, R. C. L., S. A. Drury, et J. L. Chapman. 2000. *The Great Ice Age climate change and life*. Routledge, London et New York.

Wooding, S., et R. Ward. 1997. Phylogeography and Pleistocene evolution in the North American black bear. *Mol. Biol. Evol.* 14: 1096-1105.

Woodworth, L. M., M. E. Montgomery, R. K. Nurthen, D. A. Briscoe, et R. Frankham. 1994. Modelling problems in conservation genetics using *Drosophila* : consequences of fluctuating population sizes. *Mol. Ecol.* 3: 393-400.

Wright, S. 1931. Evolution in Mendelian populations. *Genetics* 16: 97-159.

Wright, S. 1938. Size of population and breeding structure in relation to evolution. *Science* 87: 430-431.

Wright, S. 1940. Breeding structure of populations in relation to speciation. *Am. Nat.* 74: 232-248.

Wright, S. 1969. The theory of gene frequencies. In *Evolution and the genetics of populations* Vol. 2. University of Chicago Press, Chicago, IL.

Zink, R. M. 1996. Comparative phylogeography in north american birds. *Evolution* 50: 308-317



## **ANNEXES**

## APPENDIX I

Genetic diversity at mtDNA and microsatellite loci and M values calculated over the variable loci for northern pike (Eslu), lake whitefish (Cocl) and yellow perch (Pefl): number of haplotypes (n), haplotype diversity (h), nucleotide diversity ( $\pi$ ), number of alleles at each locus (A), gene diversity ( $H_E$ ), observed heterozygosity ( $H_O$ ), total calculated over all populations (Total), mean calculated over all populations (Mean), mean number of alleles for each population over all loci (Mean A), mean gene diversity calculated over all loci for each population (Mean  $H_E$ ), mean observed heterozygosity calculated over all loci for each population (Mean  $H_O$ ). \* refers to departures from HWE that remained significant following a sequential Bonferroni correction.

Eslu		M1	M4	M5	M6	M7	J2	S2	S5	O1	O2	Total	Mean
MtDNA	n	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	h	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	$\pi$	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Elu 1	A	3	11	10	9	5	11	5	5	14	12	16	8.5
	He	0.584	0.892	0.808	0.909	0.768	0.915	0.749	0.802	0.934	0.931	0.909	0.829
	Ho	0.600	0.933	0.833	0.909	0.500	0.800	0.867	0.714	0.929	0.926	0.816	0.801
Elu 2	A	1	3	3	4	2	2	1	2	1	2	5	2.1
	He	0	0.497	0.492	0.471	0.431	0.239	0	0.268	0	0.331	0.289	0.273
	Ho	0	0.533	0.538	0.583	0.417	0.267	0	0.300	0	0.133	0.269	0.277
Elu 19	A	4	4	3	3	3	3	3	4	3	3	8	3.3
	He	0.525	0.356	0.627	0.557	0.594	0.301	0.191	0.627	0.578	0.437	0.582	0.479
	Ho	0.667	0.400	0.750	0.538	0.667	0.200	0.200	0.667	0.385	0.455	0.477	0.493
Elu B24	A	5	6	3	8	6	7	5	5	5	6	13	5.6
	He	0.772	0.846	0.255	0.801	0.589	0.839	0.701	0.779	0.749	0.730	0.847	0.706
	Ho	0.667	0.867	0.182	0.727	0.455	0.867	0.429	0.667	0.571	0.786	0.636	0.622
Elu B25	A	6	10	7	9	7	9	5	4	5	7	17	5.9
	He	0.818	0.878	0.703	0.905	0.754	0.894	0.756	0.636	0.616	0.846	0.887	0.781
	Ho	0.818	0.800	0.667	0.800	0.500	0.929	0.667	0.636	0.533	0.867	0.723	0.722
Mean A		3.8	6.8	5.2	3.8	4.6	6.4	6.6	4	5.6	6	-	-
Mean H <sub>E</sub>		0.540	0.694	0.577	0.479	0.627	0.638	0.729	0.622	0.575	0.655	-	-
Mean H <sub>O</sub>		0.550	0.707	0.594	0.433	0.508	0.613	0.720	0.597	0.484	0.633	-	-
# polymorphic loci	4	5	5	5	5	5	5	4	5	4	5	-	-
Overall "M"		0.598	0.831	0.929	0.553	0.838	0.866	0.785	0.841	0.622	0.956	-	-

Cocl	M2	M4	M5	M6	M7	J1	S1	S4	O3	Total	Mean
MtDNA											
n	2	1	1	3	1	2	2	1	1	3	1.6
h	0.5275	0	0	0.5303	0	0.3429	0.5143	0	0	0.6114	0.2128
$\pi$	0.002	0	0	0.002	0	0.001	0.002	0	0	0.002	0.0008
Bwf-1											
A	1	1	2	1	1	3	1	2	2	4	1.6
He	0	0	0.508	0	0	0.686 *	0	0.503	0.290	0.463	0.221
Ho	0	0	0.467	0	0	0.308 *	0	0.333	0.167	0.148	0.142
Bwf-2											
A	2	2	1	3	1	1	3	1	1	6	1.7
He	0.495	0.129	0	0.481	0	0	0.349	0	0	0.247	0.162
Ho	0.357	0.133	0	0.545	0	0	0.333	0	0	0.153	0.152
Cocl-23											
A	3	4	2	2	2	2	5	2	3	8	2.8
He	0.536	0.533	0.517	0.464	0.518	0.495	0.497	0.228	0.405	0.694	0.466
Ho	0.600	0.250	0.600	0.500	0.583	0.357	0.533	0.250	0.357	0.455	0.448
Sfo-23											
A	2	3	1	4	4	4	4	2	3	8	3
He	0.290	0.624	0	0.563	0.515	0.692	0.563	0.268	0.689	0.695	0.467
Ho	0.167	0.571	0	0.400	0.455	0.667	0.643	0.100	0.615	0.450	0.402
Mean A	2	2.5	1.5	2.5	2	2.5	3.3	1.8	2.3	-	-
Mean H <sub>E</sub>	0.330	0.321	0.256	0.377	0.258	0.468	0.352	0.250	0.346	-	-
Mean H <sub>O</sub>	0.281	0.239	0.267	0.361	0.260	0.333	0.377	0.171	0.285	-	-
# polymorphic loci	3	3	2	3	2	3	3	3	3	-	-
Overall "M"	0.360	0.705	0.500	0.533	0.417	0.833	0.589	0.407	0.667	-	-

Pefl	M2	M3	M4	M5	M6	M7	J1	S3	S4	O1	O2	Total	Mean
MtDNA	n	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	1
	h	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.4498	0
	$\pi$	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.006	0
Pfla-L1	A	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1
	He	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.314	0
	Ho	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pfla-L2	A	2	3	5	3	1	1	1	3	2	3	7	2.5
	He	0.400	0.685	0.659	0.649	0.511	0	0	0.453	0.507	0.598	0.674	0.406
	Ho	0.500	0.833	0.417	0.667	0.500	0	0	0.583	0.167	0.417	0.414	0.371
Pfla-L4	A	3	7	10	10	9	5	2	5	5	9	22	6.5
	He	0.680	0.790	0.913	0.889	0.879	0.752*	0.812	0.083	0.368	0.739	0.814	0.931
	Ho	0.909	0.917	1	1	0.800	0.222*	0.750	0.083	0.400	0.667	0.727	0.750
Pfla-L7	A	3	2	2	2	3	4	1	3	2	4	9	2.5
	He	0.692	0.431	0.489*	0.524	0.242	0.739	0	0.582	0.526	0.593	0.750	0.438
	Ho	0.375	0.417	0.250*	0.455	0.125	0.778	0	0.778	0.600	0.545	0.392	0.393
Pfla-L9	A	2	5	2	2	2	1	3	2	1	1	9	2
	He	0.495	0.658	0.290	0.506	0.189	0	0.236	0	0.506	0	0.585	0.262
	Ho	0.429	0.636	0.333	0.636	0.200	0	0.250	0	0.455	0	0.290	0.267
Mean A		2.2	3.6	4	3.6	3.6	2.4	2.6	1.2	2.8	2.2	3.6	-
Mean H <sub>E</sub>		0.453	0.513	0.470	0.514	0.364	0.298	0.210	0.017	0.382	0.354	0.401	-
Mean H <sub>O</sub>		0.443	0.561	0.400	0.552	0.325	0.200	0.200	0.017	0.443	0.287	0.338	-
# polymorphic loci		4	4	4	4	4	2	2	1	4	3	3	-
Overall "M"		0.318	0.395	0.698	0.714	0.782	0.561	0.850	0.500	0.720	0.564	0.633	-

## APPENDIX II

Genetic differentiation between pairs of populations calculated over the variable loci for northern pike (Eslu), lake whitefish (Cocl) and yellow perch (Pefl). Above diagonal: Pairwise  $\rho_{ST}$  values. Below diagonal: Pairwise  $F_{ST}$  values.

Eslu	M1	M4	M5	M6	M7	J2	S2	S5	O1	O2
M1		0.1997	0.2006	0.0396	0.2500	0.2256	0.0497	0.3486	0.1104	0.1680
M4	0.1868		-0.0292	0.0186	0.1061	-0.0094	0.2358	0.0623	0.0844	0.1546
M5	0.1773	0.1128		-0.0115	0.1729	0.0027	0.2542	0.0608	0.0846	0.1296
M6	0.0986	0.0541	0.1073		0.1350	0.0200	0.0241	0.0785	0.0724	0.0110
M7	0.2168	0.0791	0.2056	0.0948		0.2110	0.4398	0.3251	-0.2390	0.4070
J2	0.1927	0.0181	0.1369	0.0369	0.113		0.2654	0.1362	0.1632	0.1247
S2	0.2457	0.1000	0.2031	0.1190	0.2249	0.0787		0.4833	0.1708	0.1144
S5	0.1628	0.1666	0.1850	0.1235	0.1915	0.1963	0.1190		0.1461	0.2325
O1	0.1475	0.1475	0.2424	0.0873	0.1436	0.1280	0.2136	0.2008		0.2427
O2	0.1568	0.0383	0.1397	0.0224	0.1189	0.0312	0.0882	0.1439	0.1360	

Cocl	M2	M4	M5	M6	M7	J1	S1	S4	O3
M2		0.1765	0.1836	0.2668	0.4386	0.2863	0.2662	0.5252	0.1646
M4	0.2922		0.0930	0.0229	0.5645	0.2051	0.1394	0.6170	0.0578
M5	0.4216	0.3664		0.0833	0.3426	0.2499	0.0447	0.5256	-0.0072
M6	0.1538	0.1220	0.2892		0.4800	0.2066	0.0761	0.5779	0.0609
M7	0.3898	0.2994	0.3175	0.2828		0.4356	0.5169	0.6316	0.4513
J1	0.3832	0.2416	0.2854	0.2685	0.3205		0.3802	0.7079	0.1265
S1	0.3629	0.2472	0.4435	0.2783	0.4120	0.3689		0.4462	0.1009
S4	0.4887	0.3768	0.4999	0.4071	0.5565	0.3550	0.3928		0.5175
O3	0.5221	0.4061	0.4353	0.4162	0.4957	0.1836	0.5084	0.5033	

Pefl	M2	M3	M4	M5	M6	M7	J1	S3	S4	O1	O2
M2		0.3848	0.7923	0.8127	0.7761	0.8155	0.8665	0.7196	0.8504	0.7645	0.7841
M3	0.3600		0.5667	0.5444	0.5378	0.5567	0.6226	0.5127	0.5739	0.5401	0.5417
M4	0.3171	0.3654		0.0130	0.0399	0.0303	0.0573	0.6384	-0.0129	0.1689	0.1783
M5	0.2029	0.3318	0.1181		0.0459	0.0369	0.3487	0.7999	0.0996	0.1955	0.2543
M6	0.3970	0.4044	0.2558	0.2759		-0.0251	0.2244	0.6491	0.1812	0.0424	0.0785
M7	0.4017	0.4588	0.3158	0.2656	0.1832		0.3548	0.8758	0.2110	0.1600	0.2605
J1	0.5366	0.5369	0.3638	0.4242	0.5882	0.6622		0.9362	0.2940	0.4151	0.5145
S3	0.7324	0.6476	0.4923	0.5361	0.6552	0.7291	0.8005		0.9157	0.4983	0.6619
S4	0.3754	0.4088	0.2931	0.2331	0.3019	0.2492	0.5850	0.6656		0.4042	0.4979
O1	0.4240	0.4196	0.2290	0.2467	0.1312	0.1877	0.5826	0.4601	0.2312		-0.0464
O2	0.3577	0.3865	0.0476	0.1614	0.2070	0.2385	0.4642	0.5094	0.2751	0.1720	